

# UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I



## TESIS DOCTORAL

**Análisis del crecimiento larvario en anchoa (*Engraulis encrasicolus*) y  
sardina (*Sardina pilchardus*) del Mediterráneo occidental**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**José María Quintanilla Hervás**

Director  
Alberto García García

**Madrid, 2016**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
Departamento de Zoología y Antropología Física



**TESIS DOCTORAL**

**Análisis del crecimiento larvario en anchoa  
(*Engraulis encrasicolus*) y sardina (*Sardina  
pilchardus*) del Mediterráneo Occidental**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR**

**José M<sup>a</sup> Quintanilla Hervás**

Director  
Dr. Alberto García García

**Madrid, 2016**





**Universidad Complutense de Madrid**  
**Facultad de Biología**  
**Departamento de Zoología y Antropología Física**

**Análisis del crecimiento larvario en anchoa  
(*Engraulis encrasicolus*) y sardina (*Sardina  
pilchardus*) del Mediterráneo Occidental**

Memoria presentada por el licenciado José M<sup>a</sup> Quintanilla para  
optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas. Dirigida por el Dr.  
Alberto García García del Instituto Español de Oceanografía (IEO).

Madrid, noviembre de 2015

*El doctorando*

*VºBº del director*

*J.M. Quintanilla Hervás*

*Alberto García García*



# **ÍNDICE**

PAG.

## **CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN**

1

### 1.1.- ÁREA DE ESTUDIO

3

#### 1.1.1.- MEDITERRÁNEO NOROCCIDENTAL

4

#### 1.1.2.- MEDITERRÁNEO SUROCCIDENTAL

5

### 1.2.- ESPECIES DE ESTUDIO

7

#### 1.2.1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES

7

#### 1.2.2.- ANCHOA (*ENGRAULIS ENCRASICOLUS*)

9

#### 1.2.3.- SARDINA (*SARDINA PILCHARDUS*)

10

### 1.3.- FASES LARVIARIAS

11

#### 1.3.1.- CARACTERÍSTICAS GENERALES

12

#### 1.3.4.- IMPORTANCIA DEL ESTADO LARVARIO

13

### 1.4.- CRECIMIENTO LARVARIO

14

#### 1.4.1.- MÉTODOS DE ESTIMACIÓN DE EDAD

16

### 1.5.- ECOLOGÍA TRÓFICA

22

### 1.6.- OBJETIVOS

25

## **CAPÍTULO 2: COMPARACIÓN DEL CRECIMIENTO Y COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA DE LARVAS DE SARDINA EN TRES ÁREAS DEL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL**

29

### 2.1.- RESUMEN

31

### 2.2.- INTRODUCCIÓN

32

### 2.3.- MATERIAL Y MÉTODOS

33

### 2.4.- RESULTADOS

35

2.5.- DISCUSIÓN	40
2.6.- BIBLIOGRAFÍA	42

### **CAPÍTULO 3: ESTUDIO COMBINADO DE LA VARIABILIDAD DEL CRECIMIENTO LARVARIO Y LA HUELLA ISOTÓPICA DE NITRÓGENO Y CARBONO EN LARVAS DE SARDINA**

45

3.1.- RESUMEN	47
3.2.- INTRODUCCIÓN	47
3.3.- MATERIAL Y MÉTODOS	49
3.4.- RESULTADOS	51
3.5.- DISCUSIÓN	56
3.6.- BIBLIOGRAFÍA	62

### **CAPÍTULO 4: INFLUENCIA DE LAS INTERACCIONES TRÓFICAS EN EL PATRÓN DE CRECIMIENTO DIARIO DE LARVAS DE ANCHOA DEL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL**

67

4.1.- RESUMEN	69
4.2.- INTRODUCCIÓN	69
4.3.- MATERIAL Y MÉTODOS	71
4.4.- RESULTADOS	73
4.5.- DISCUSIÓN	75
4.6.- BIBLIOGRAFÍA	79

**CAPÍTULO 5: MÉTODO SEMIAUTOMÁTICO DE ESTIMACIÓN DE EDAD EN POBLACIONES LARVIARIAS BASADO EN MODELOS DE FUNCIONES DISCRIMINANTES**

83

5.1.- RESUMEN 85

5.2.- INTRODUCCIÓN 85

5.3.- MATERIAL Y MÉTODOS 86

5.4.- RESULTADOS 86

5.5.- DISCUSIÓN 87

5.6.- BIBLIOGRAFÍA 90

**CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN**

91

6.1.- CRECIMIENTO LARVARIO 95

6.2.- FACTORES AMBIENTALES 99

6.3.- BIOMETRÍA DE LOS OTOLITOS 102

6.4.- FACTORES DE CONDICIÓN 104

6.5.- ECOLOGÍA TRÓFICA 106

6.6.- MODELOS DE ESTIMACIÓN DE EDAD 113

**CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES**

119

**CAPÍTULO 8: INVESTIGACIONES FUTURAS**

123

**CAPÍTULO 9: BIBLIOGRAFÍA**

127

**CAPÍTULO 10: RESUMEN**

163





# CAPÍTULO 1

## Introducción

---



## **1.1.- ÁREA DE ESTUDIO**

El Mediterráneo es un mar casi cerrado conectado con el Océano Atlántico por el Estrecho de Gibraltar, con el Mar Negro por el Estrecho del Bósforo y a través del Canal de Suez con el Mar Rojo. Su profundidad media es de 1500 m, con un máximo de 5121 m en la fosa helénica (Rodríguez 1982).

Todo el Mediterráneo representa una cuenca de concentración lo que implica que la evaporación supera la suma de la precipitación y los aportes fluviales. Este déficit hídrico se compensa por la entrada de aguas superficiales Atlánticas a través del estrecho de Gibraltar. La cuenca Mediterránea se encuentra dividida en dos por el Canal de Sicilia: la sub-cuenca oriental y la sub-occidental (Menna & Poulain 2010).

En términos generales, el Mediterráneo es considerado un mar oligotrófico (Margalef 1985, Estrada 1996). Sin embargo, existen zonas en las que los procesos de enriquecimiento originan un gran aumento en la producción primaria durante determinadas épocas del año (Estrada 1985, Morel & Andre 1991).

Estas áreas tienen una importante relevancia pesquera ya que son seleccionadas como zonas de puesta (Coombs et al. 1997, 2003, Agostini 2000, Sabatés et al. 2001) y se caracterizan por la presencia de procesos físicos de enriquecimiento, retención y concentración que los convierten en hábitats esenciales para la reproducción de numerosas especies (Bakun 1996). Dentro del mar Mediterráneo, el Mar Catalán y el Mar de Alborán constituyen dos ejemplos de estos hábitats esenciales para las especies de pequeños pelágicos (Agostini & Bakun 2002).

### **1.1.1.- Mediterráneo Noroccidental**

La región del Mar Catalán es una de las zonas más importantes en cuanto de desove de pequeños pelágicos (Palomera 1992, García & Palomera 1996, Olivar et al. 2001) caracterizada por una extensa plataforma compuesta principalmente por sedimentos finos y aguas ricas en nutrientes provenientes del Delta del río Ebro que favorecen la producción primaria y, en consecuencia, la disponibilidad de alimento para el desarrollo de las larvas de numerosas especies (Palomera et al. 2007). Asimismo, sus características batimétricas como la extensión en profundidad de la plataforma, originan fenómenos de afloramiento (Font et al. 1990) por los que se produce el ascenso de aguas frías y ricas en nutrientes desde el fondo marino a la superficie.

El patrón de circulación hidrográfico en esta zona está dominado por la corriente que circula a lo largo de la costa en dirección suroeste (Fig. 1; Castellón et al. 1990) condicionada por dos frentes: el frente de Catalán situado sobre el talud peninsular (separa aguas menos salinas influenciadas por el agua Atlántica y los aportes fluviales de las aguas de mar abierto) y el frente Balear localizado sobre el talúd insular.

Junto con los aportes fluviales y los procesos de meso-escala, otro fenómeno de fertilización de las capas superficiales en esta zona es debido a los de vientos de componentes noroeste que originan afloramientos costeros en la desembocadura del Ebro (Milot 1990, Estrada 1996, Salat et al. 2002, Lloret et al. 2004).

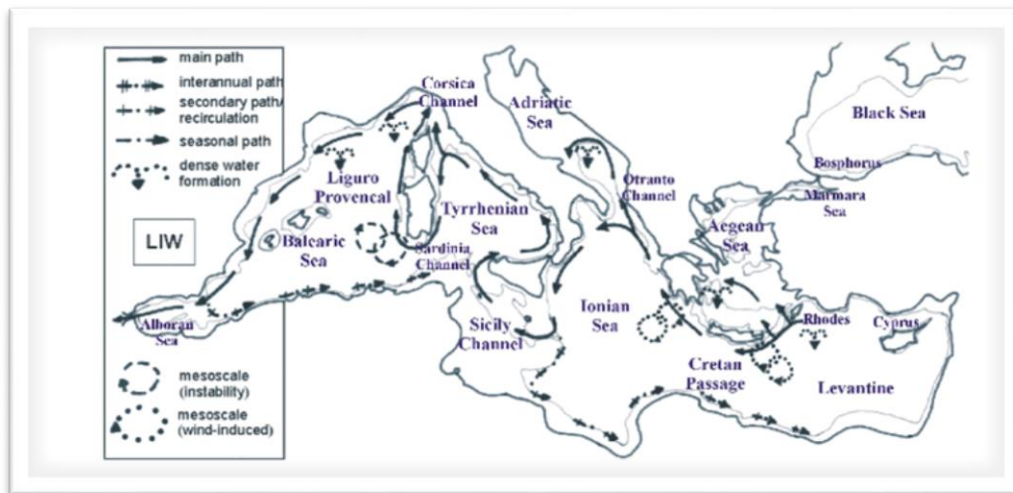


Fig 1.- Mapa de las principales corrientes en el Mar Mediterráneo (Menna & Poulain 2010)

La inestabilidad del flujo de la corriente dominante condiciona la formación de estructuras de meso-escala (Rubio et al. 2005), lo que asociado a la variabilidad tanto de los aportes fluviales como de los vientos (Salat 1996) provoca importantes diferencias estacionales e interanuales en los procesos de enriquecimiento y, en consecuencia, en disponibilidad de alimento en esta área.

### 1.1.2.- Mediterráneo Suroccidental

En el Mar de Alborán se produce el intercambio de masas de agua entre en Océano Atlántico y el Mar Mediterráneo a través del Estrecho de Gibraltar (Lacombe & Richez 1982, Bryden et al. 1994) que condiciona el patón de circulación de la zona. La corriente Atlántica entra hacia el este en las capas superficiales mientras las aguas mediterráneas salen hacia el Atlántico en profundidad (Fig. 2). En términos generales, las aguas atlánticas se caracterizan por ser más templadas, menos salinas y con un menor contenido

en nutrientes en comparación con las mediterráneas (Coste et al. 1988, Minas et al. 1991, Gómez et al. 2000).

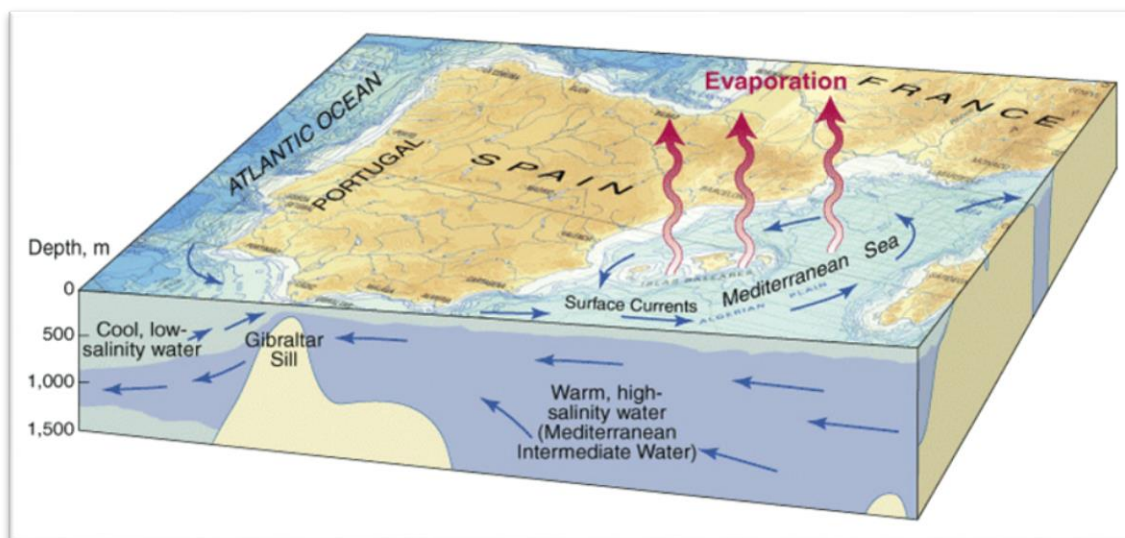


Fig 2.- Entrada de agua Atlántica a través del Estrecho de Gibraltar (Fuente: <http://retosterricolas.blogspot.com/2011>).

La corriente superficial Atlántica provoca la formación de estructuras de mesoescala (Chenney & Doblar 1982, Parrilla & Kinder 1987, Tintoré et al. 1991) que ejercen una importante influencia sobre la plataforma de las costas del Mar de Alborán.

El flujo de agua entrante produce un sistema de dos giros anticiclónicos que ocupan casi la totalidad de la cuenca y provoca la formación de un frente geostrófico en el sector noroccidental (Fig. 3, Minas et al. 1991, Sarhan et al. 2000) que origina un afloramiento de aguas saladas y ricas en nutrientes que aumenta la presencia del fitoplancton y el zooplancton (Mercado et al. 2007).

Este patrón de circulación es variable según el flujo entrante (Cheney & Doblar 1982) que tiene una componente estacional (Vargas-Yáñez et al. 2002)

con un máximo en el periodo estival y el mínimo durante el invierno (Ovchinnikov 1974, García Lafuente et al. 2002).

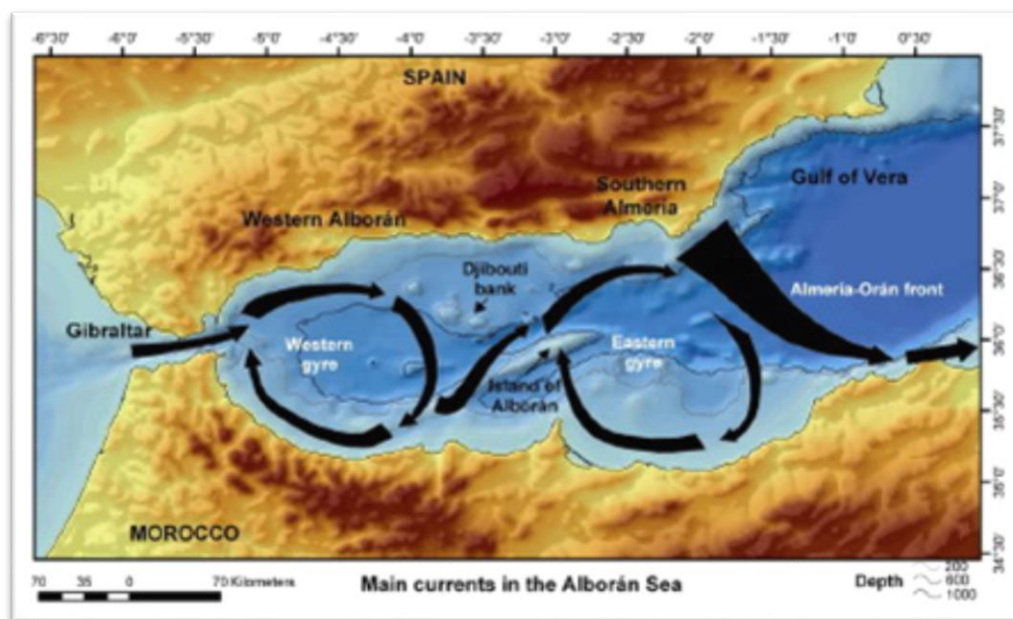


Fig 3.- Sistema de giros anticiclónicos en el mar de Alborán (Fuente: [http://www.alnilam.com.es /spanish/alboran/fisica.php](http://www.alnilam.com.es/spanish/alboran/fisica.php)).

Además, la variabilidad en la producción primaria de esta zona también se encuentra bajo la influencia de la duración e intensidad de los episodios de vientos (Arévalo & García Lafuente 1983, Cano & García Lafuente 1991) siendo, por ejemplo, los de componentes norte y/o noroeste responsables de los afloramientos costeros en la costa norte del Mar de Alborán.

## **1.2.- ESPECIES DE ESTUDIO**

### **1.2.1.- Características generales**

La anchoa (*Engraulis encrasicolus*) y la sardina (*Sardina pilchardus*) son las especies de pequeños pelágicos más importantes en las costas del Mediterráneo occidental (Lleonart & Maynou 2003). Las capturas de este grupo de especies tiene un valor comercial fundamental ya que son las más pescadas



en términos de biomasa (Palomera et al. 2007), representando más del 25% del total de capturas mundiales y más del 50% de las correspondientes al Mar Mediterráneo (Whitehead et al. 1988).

Ambas especies pertenecen a la familia de los clupeidos compuesta por especies de hábitos pelágicos y vida corta con un comportamiento gregario que hace que se agrupen en densos cardúmenes asociados a sistemas de corrientes y zonas de afloramiento costero (Palomera 1989, 1992, García & Palomera 1996). En términos generales, presentan edades tempranas de primera madurez así como elevadas tasas de crecimiento y mortalidad. Para asegurar su supervivencia y contribución al stock de adultos, desovan intermitentemente (ponedores parciales) en numerosas tandas durante una prolongada época de puesta (Alheit 1988). Estas especies son muy vulnerables a los cambios ambientales (Coll et al. 2008) y constituyen una parte importante de la dieta de otras especies pelágicas, demersales y apicales (Coll et al. 2006, Palomera et al. 2007, Navarro et al. 2009).

Por tanto, las poblaciones de pequeños pelágicos son componentes esenciales de los sistemas marinos tanto por la importancia que representa su biomasa en los niveles intermedios de la cadena trófica (Palomera et al. 2007) como por su influencia en la transferencia de energía desde los niveles tróficos más bajos (plancton) a los grandes predadores (peces, aves y mamíferos marinos) (Bakun 1996, Cury et al. 2000). De este modo, las variaciones que sufren dichas poblaciones influyen sobre los niveles tróficos inferiores (control top-down sobre sus presas (fundamentalmente meso-zooplancton) y superiores (control bottom-up sobre sus depredadores) (Cury et al. 2000, Bakun 2006)

constituyendo los denominados ecosistemas cintura de avispa ("wasp-waist") (Rice 1995, Bakun 1996).

Las zonas del nor y suroccidentales del Mar Mediterráneo tienen importantes diferencias hidroclimáticas que determinan las características de estos ecosistemas (García & Palomera 1996, Bakun & Agostini 2001, Agostini & Bakun 2002) y provocan que, desde un punto de vista del asesoramiento pesquero, ambas regiones sean consideradas áreas geográficas estadísticamente independientes (GSA6 y GSA1 respectivamente, FAO2006) y que las poblaciones de anchoa y sardina que se distribuyen en la región más septentrional de las costas mediterráneas españolas (Mediterráneo noroccidental) y el Mar de Alborán (Mediterráneo suroccidental) sean consideradas como subpoblaciones de la misma especie (Riveiro et al. 2011, Ramón & Castro 1997, Tugores et al. 2010, Giannoulaki et al. 2013).

### 1.2.2.- Anchoa (*Engraulis encrasicolus*)

La anchoa europea se distribuye por todo el Mediterráneo, en la costa atlántica de Europa y África (desde el sur de Noruega hasta Sudáfrica) y está también presente en el Mar Negro y el Mar de Azov (Abad et al. 1998).

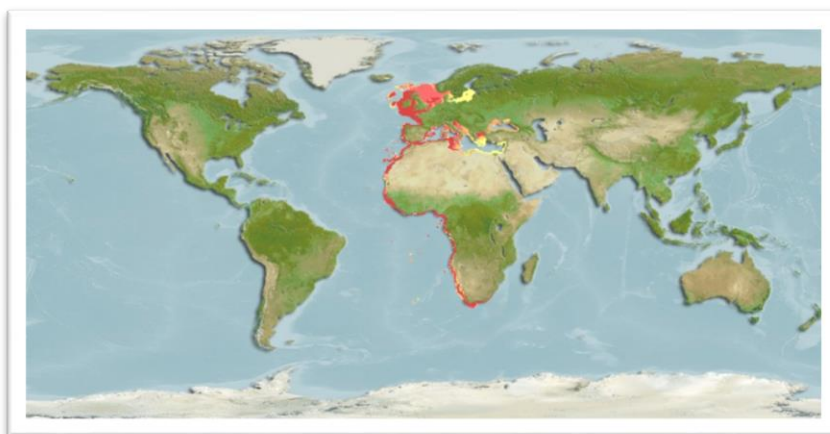


Fig 4.- Área de distribución de *Engraulis encrasicolus* (Fuente: [www.aquamaps.org](http://www.aquamaps.org))

En el Mediterráneo occidental, la anchoa representa la especie de pequeño pelágico de mayor valor comercial (García et al. 2003) con una época de puesta que se extiende desde principios de primavera (Marzo-Abril) hasta principios de otoño (Septiembre-October) con un pico de puesta en verano entre los meses de Junio y Julio, cuando las aguas superficiales alcanzan temperaturas entre los 15°C y los 22°C (Palomera 1989, Giráldez & Abad 1995).

### 1.2.3.- Sardina (*Sardina pilchardus*)

El área de distribución de la sardina se extiende entre las isothermas de superficie de 10 °C a 20 °C (Wyatt 1985), siendo abundante en las costas orientales del Atlántico Norte y extendiéndose desde Senegal hasta Islandia, incluyendo las Islas Azores, Canarias y Madeira. También abunda en el Mediterráneo occidental y en el mar Adriático, siendo menos común en el Mediterráneo oriental, mar Egeo, mar de Mármara y mar Negro, (Whitehead 1981, 1985, 1990, González 2007).

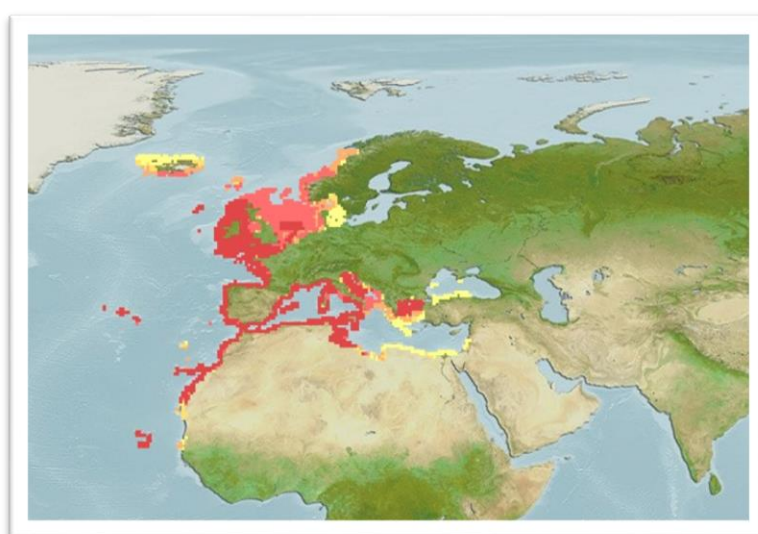


Fig 5.- Área de distribución de *Sardina pilchardus* (Fuente: [www.aquamaps.org](http://www.aquamaps.org))

La sardina es el pequeño pelágico más abundante en las costas mediterráneas occidentales y, aunque se distribuye a lo largo de toda la plataforma de las costas españolas, las áreas de mayor concentración son el Mar Catalán y el Mar de Alborán (Abad et al. 1998)

Su periodo de puesta que se prolonga desde otoño a primavera con un pico de puesta en invierno (Enero-Febrero) (Gómez-Larrañeta 1960, Rodríguez 1990, Palomera & Olivar 1996, Olivar et al. 2001, 2003) cuando la temperatura superficial desciende por debajo de los 20°C.

### **1.3.- FASES LARVIARIAS**

Durante las primeras etapas de su desarrollo, las especies de pequeños pelágicos forman parte del ictioplancton, que representa la fracción zooplanctónica compuesta por los huevos y larvas que se desarrollan en el entorno planctónico (Ahlstrom & Moser 1976).

El periodo larvario se extiende desde el momento de la eclosión del huevo hasta el estado juvenil (Blaxter 1969), cuando la larva adquiere la apariencia de un pequeño adulto. La larva recién eclosionada (larva lecitotrófica) cuenta con una reserva alimenticia compuesta por un saco vitelino que, en un periodo de tiempo variable en función de la temperatura, es reabsorbido y la larva para pasar a depender de la captura de presas de su entorno para poder sobrevivir.

El estado larvario se caracteriza por modificaciones progresivas a lo largo del crecimiento en el desarrollo de los órganos, la localización e

intensidad de los pigmentos y en la diferenciación de las aletas (ICES 2014 - *WKIDCLUB*).

### 1.3.1.- Características generales

Las larvas de anchoa y sardina presentan una serie de características propias de la familia de los clupeidos que permiten su identificación entre las que destacan la forma tubular del cuerpo, el número de miómeros en el tronco, el número de radios de las aletas y la variación de la proporción corporal durante el desarrollo y (ICES 2014 - *WKIDCLUB*).

Las larvas de anchoa presentan una talla de eclosión entre 3.0-4.0 mm, el saco vitelino es reabsorbido a una talla de 5 mm y la flexión del urostilo se produce entre los 9.0-10.0 mm.

Se contabilizan entre 44 - 47 miómeros en el tronco, la formación de la aleta comienza a los 6 mm y la de la vejiga natatoria a los 11 mm. (Ré & Meneses 2009).

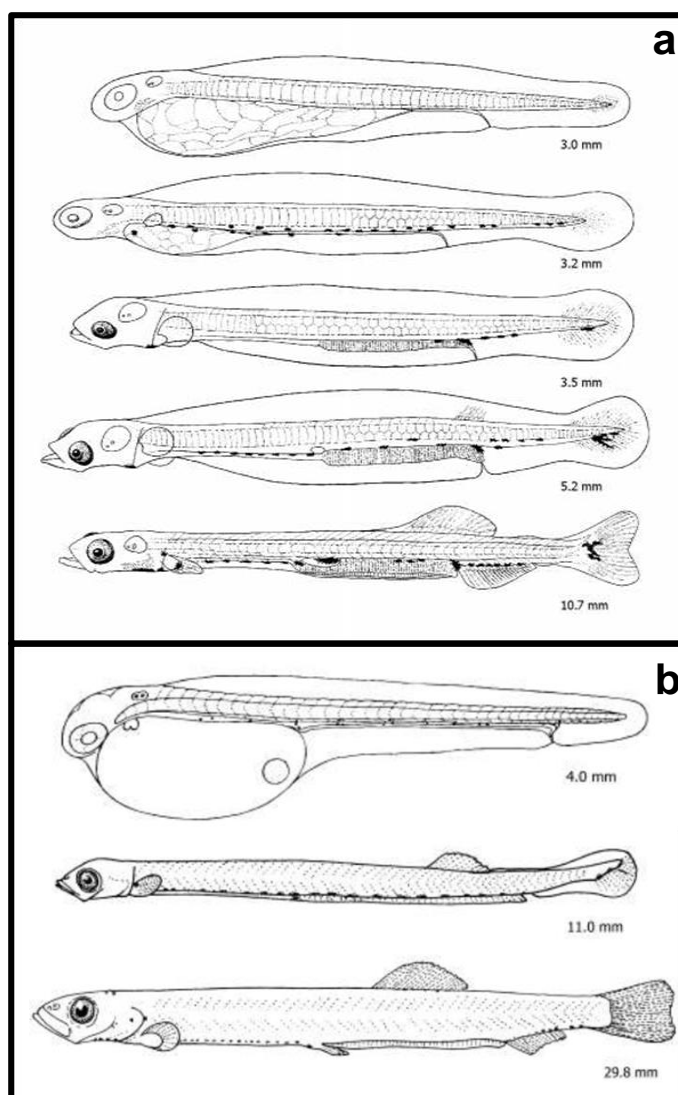


Fig 6.- Estadios larvarios anchoa (a) y sardina (b) (Ré & Meneses 2009)

Las larvas de sardina eclosionan con una talla entre 3.2-4.0 mm, completan la absorción del saco vitelino entre los 4.0 y 5.5 mm y el paso del estado de pre a post-flexión se da entre los 10-12.5 mm. Presentan un total de entre 36-41 miómeros preanales, la aleta dorsal comienza su formación a los 7.5 mm. y la vejiga natatoria a los 10 mm. (Ré & Meneses 2009)

Las principales características para la diferenciación taxonómica entre ambas especies a nivel macroscópico se basan en la disposición de las aletas dorsal y anal junto con la longitud y la localización de la cloaca. En las larvas de sardina el final de aleta dorsal y el comienzo de la anal no se superponen y presentan un largo tubo digestivo que desemboca en una cloaca próxima a la aleta caudal. En cambio, la aleta dorsal y anal en las larvas de anchoa solapan, la longitud del tubo digestivo es notablemente más corta y la cloaca se sitúa más adelantada que en las larvas de sardina.

### **1.3.2.- Importancia del estado larvario**

Teniendo en consideración todo su ciclo vital, la fase larvaria representa el periodo en el que las especies sufren las mayores tasas de mortalidad, lo que tiene efectos drásticos sobre el reclutamiento de las especies (Houde 1987) ya que menos del 0.1% del total de larvas llegan a completar su desarrollo hasta el estado juvenil (Houde 1989a).

Los pequeños pelágicos sufren grandes fluctuaciones interanuales en el reclutamiento que afectan directamente al tamaño de sus poblaciones (Kawasaki 1991, Wyatt & Larrañeta 1988) donde la supervivencia de las fases larvarias juega un papel fundamental (May 1974, Bailey & Houde 1989, Munuera 2006).

La supervivencia larvaria está íntimamente asociada con el potencial de crecimiento como queda reflejado en la hipótesis de “growth-mortality” postulada por Anderson (1988). Las bases funcionales de esta hipótesis fueron expuestas por Hare & Cowen (1997) proponiendo tres conceptos interrelacionados durante el desarrollo larvario: “bigger is better” (Miller et al. 1988, Legget & DeBlois 1994), “growth rate” (Ware 1975, Sheperd & Cushing 1980) y “stage duration” (Chambers & Legget 1987, Houde 1987).

Según estas hipótesis, individuos de mayor tamaño son menos vulnerables a la depredación y, por tanto, larvas más grandes para una determinada edad tienen una mayor tasa de supervivencia (Miller et al. 1988). Además, como la mortalidad es dependiente de la talla (Hare & Cowen 1997), aquellas larvas con mayores tasas de crecimiento acortarían el periodo de alta mortalidad larvario (Ware 1975, Sheperd & Cushing 1980, Chambers & Leggett 1987, Houde 1987) aumentando sus probabilidades de supervivencia. Por tanto, un crecimiento rápido reduciría el impacto de los predadores sobre las presas y su tiempo de exposición a una ventana de vulnerabilidad (Beyer 1989, Pepin 1989, 1991) en comparación con los de crecimiento más lento.

#### **1.4.- CRECIMIENTO LARVARIO**

En términos generales, el crecimiento se define como el desarrollo de un organismo o el aumento de tamaño de una célula, órgano o ser vivo a lo largo del tiempo.

Una de las principales características del crecimiento es su gran plasticidad, que hace que sea muy variable en función de diversos factores entre los que destacan la herencia genética y, sobre todo, los factores

ambientales como la temperatura o la disponibilidad de alimento (Buckley 1984, Heath 1992, Rilling & Houde 1999, Jobling 2002).

En el ámbito biológico, y más concretamente en referencia a la fase larvaria de los peces, podemos definir el crecimiento como un indicador de los procesos fisiológicos resultado del cociente entre la energía invertida en la osmoregulación, la disipada por fricción en el metabolismo y/o la locomoción frente a la energía ingerida, digerida y asimilada (Govoni 2005).

Los principales factores de mortalidad durante esta fase crítica del desarrollo son la inanición y la depredación (Bailey & Houde 1989, Legget & DeBlois 1994). La mortalidad debida a la inanición afecta principalmente durante un corto periodo a los individuos de menor tamaño mientras que la depredación afecta durante todas las fases del desarrollo y supone la principal fuente de mortalidad en las larvas de peces (Cushing 1974, Hunter 1981, 1984).

Larvas más grandes han presentado mayor tolerancia a la inanición y mayor capacidad para escapar de depredadores en comparación con larvas de menor tamaño (Miller et al. 1988, Bailey & Houde 1989), numerosos estudios de campo han demostrado que individuos de mayor tamaño presentan mejor supervivencia hasta el estado juvenil (Post & Pankevicius 1987, Henderson & Cass 1991, Meekan & Fortier 1996, Hare & Cowen 1997) y que las larvas de crecimiento más rápido son favorecidas frente a las de crecimiento lento (Rosenberg & Haugen 1982, Folkvord & Hunter 1986, Rice et al. 1987, Hovenkamp 1992, Meekan & Fortier 1996, Searcy & Spoungale 2001, Takasuka et al. 2003, Takahashi & Watanabe 2004).



En consecuencia, el estudio y la comprensión de los patrones de crecimiento durante los primeros estadios de las especies representa un componente esencial de las ciencias pesqueras (Gerard & Malca 2011) ya que juegan un papel determinante en la supervivencia larvaria de numerosas especies (Post & Prankevicius 1987, West & Larkin 1987, Hovenkamp 1992, Rilling & Houde 1999, Wilson & Meekan 2002) y pequeños cambios en estas tasas de crecimiento pueden provocar cambios drásticos en el reclutamiento (Houde 1987).

#### **1.4.1.- Métodos de estimación de edad**

Los estudios de asignación de edad resultan esenciales para la comprensión de características fundamentales de las especies y poblaciones de peces (tales como su esperanza de vida, la edad a la que pasan a formar parte del reclutamiento, su edad de madurez sexual o sus tasas de crecimiento y mortalidad) así como de su estructura y dinámica demográfica (Pontual et al. 2002). La importancia de estos estudios queda patente en el hecho de que, cada año, es estimada la edad de más de un millón de peces (Campana & Thorrold 2001)

El método de estimación de edad más empleado es la observación de un patrón de anillos que aparecen en distintas estructuras duras o calcificadas de los peces (Campana & Neilson 1985). Estos patrones se originan por cambios metabólicos que producen alteraciones en la proporción de materia orgánica e inorgánica depositada en algunos tejidos calcificados. Las fluctuaciones periódicas de estos procesos se reflejan en la formación de

anillos en dichas piezas duras (Wright et al. 2002) y el recuento de estos anillos en muchas especies permite determinar su edad.

La disciplina encargada del estudio de las piezas calcificadas y su relación con el tiempo es la esclerocronología, que ha demostrado ser capaz de facilitar información muy valiosa sobre la edad de los organismos en distintos campos y, particularmente, en el ámbito de la biología pesquera y la ecología marina (Piñeiro 2011).

En los peces aparecen varias estructuras calcificadas como las escamas, las vértebras, los huesos operculares, los radios de las aletas o los otolitos que presentan incrementos periódicos de crecimiento que permiten la determinación de edades tanto a escala anual como diaria (Morales-Nin et al. 1998, Campana & Neilson 1985, Campana 2001).

Entre las piezas calcificadas de los peces, los otolitos representan las estructuras más fiables para la estimación de edad por análisis de su microestructura (Campana & Neilson 1985, Stevenson & Campana 1992, Secor et al. 1995, Campana 1999) al cumplir tres características:

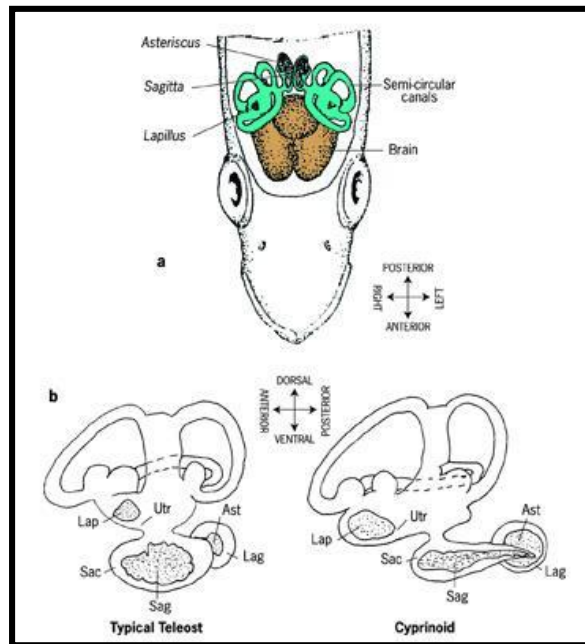
- Son las primeras piezas calcificadas que se forman, están presentes desde la eclosión y su crecimiento es continuo a lo largo de la vida del pez. Los incrementos diarios se deben a procesos endógenos circadianos (Campana & Jones 1992) por diferencias en el ciclo de deposición de la matriz proteica e inclusiones cristalinas (Victor 1991).
- No sufren procesos de reabsorción durante el desarrollo (Thorrold & Hare 2002) ya que son acelulares y metabólicamente inertes, lo que

significa que cualquier elemento o compuesto depositado sobre su superficie durante el desarrollo es retenido desde el momento de su nacimiento hasta el de su muerte, lo que facilita un registro durante todas las fases del desarrollo de los peces (Campana & Neilson 1985).

- Por último, y con una importancia esencial en el marco de esta tesis, son las únicas piezas duras que presentan estructuras diarias durante la fase larvaria (Campana & Jones 1992).

Los otolitos de los peces son concreciones de carbonato cálcico ( $\text{CaCO}_3$ ) junto con otras sales inorgánicas sobre una matriz de origen proteico (Carlström 1963, Blacker 1969, Cermeño et al. 2006). Están divididos en tres pares de estructuras (Sagittae, Lapilli y Asterisci) situados en los canales semicirculares del oído interno de los peces teleósteos (Thorrold & Hare 2002) con una doble función auditiva y de orientación espacial (Grassé 1958, Lowenstein 1971, Harder 1975, Lagler et al. 1977, Popper & Platt 1993, Campana 1999, Ramcharitar et al. 2004).

De los tres pares de otolitos, los Sagittae son los que presentan mayor variabilidad morfológica y mayor tamaño, razones que hacen que sean los más estudiados (Campana & Neilson 1985). En su composición elemental destacan el carbono (C), el oxígeno (O) y el calcio (Ca) (componentes del  $\text{CaCO}_3$ ) junto con otros elementos como el sodio (Na), estroncio (Sr), potasio (K), nitrógeno (N), cloro (Cl) o fósforo (P) a nivel menor ( $>100$  p.p.m.) y otros como el magnesio (Mg), zinc (Zn) o aluminio (Al) como elementos traza ( $<100$  p. p. m.) (Campana & Jones 1998).



*Fig 7.- Localización de los otolitos en el oído interno de los peces (Retocado de Secor 1992).*

El primero en descubrir anillos anuales de crecimiento fue Reibisch (1899) mientras que Pannella (1971) fue el primero en detectar estructuras con un ciclo de formación diaria (Campana 1999). El descubrimiento de un método para determinar la edad en larvas de peces a una escala temporal apropiada provocó el auge de la investigación e información acerca de la fase larvaria (Jones 1986, Campana 2001) e incrementó el número de estudios relacionados con la variabilidad en el crecimiento (Gutiérrez & Morales-Nin 1986), reclutamiento (Victor 1982) y la relación entre los parámetros ambientales y la supervivencia (Stevenson & Campana 1992).

Debido a sus múltiples características y su dependencia de los factores ambientales (Morales-Nin 1987), los otolitos son una de las estructuras anatómicas más útiles y usadas en los peces, lo que hace que tengan múltiples aplicaciones prácticas (Pannella 1971, Morales-Nin & Panfili 2002). Además, sirven a su vez como registro de las variaciones en las condiciones

ambientales y de los cambios fisiológicos a lo largo del desarrollo (Gerard & Malca 2011) ya que el tamaño de los incrementos está muy influenciado por la temperatura (Karakiri et al. 1989, Folkvord et al. 2000, Pavlov et al. 2000, Otterlei et al. 2002) y un mayor crecimiento del otolito con incrementos de mayor tamaño son indicadores de un mayor potencial de crecimiento (García et al. 2007).

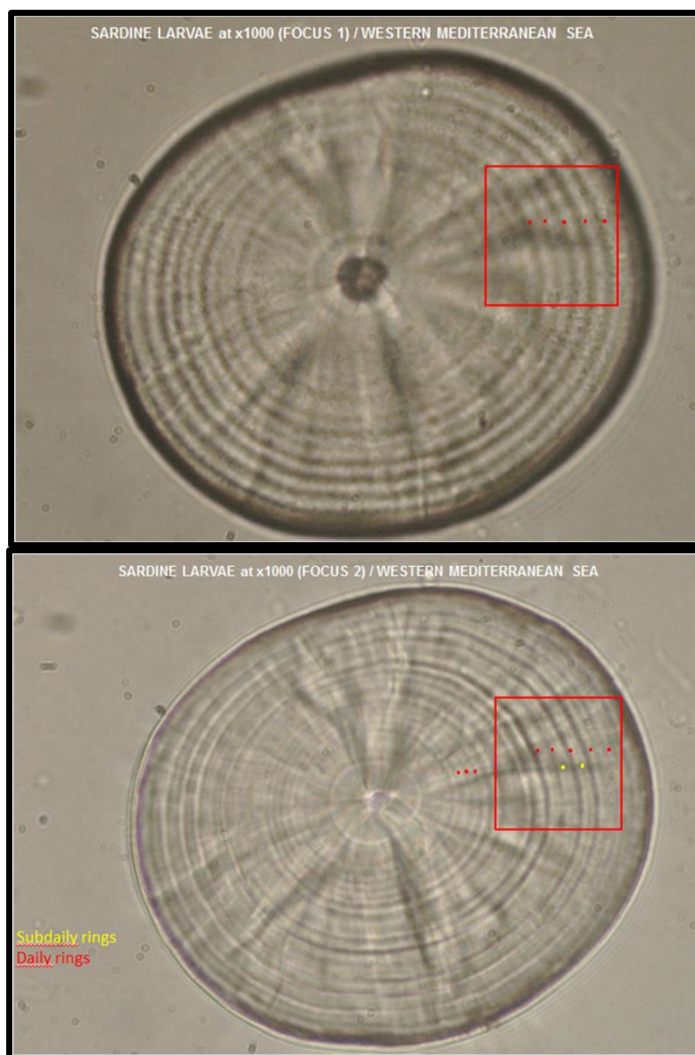


Fig 8.- Patrón de crecimiento resaltando anillos diarios y subdiarios en otolitos de larva de sardina (autor: J.M. Quintanilla presentado en ICES -WKIMIAS2014)

La exactitud de cualquier técnica para la determinación de edad requiere un proceso de validación que podemos definir como la confirmación del significado temporal de un incremento (Wilson et al. 1983) y resulta requisito imprescindible para cada especie al llevar a cabo cualquier estudio de microestructura de otolitos (Campana & Neilson 1985). La deposición diaria de incrementos ha sido validada en otolitos tanto para larvas de anchoa (Aldanondo et al. 2008) como de sardina (Ré 1984, Alemany & Álvarez 1994) lo que justifica el análisis de la microestructura de sus otolitos para la determinación de su edad.

Implicados en áreas de estudio tan diversas como la determinación de edad, ecología larvaria, diferenciación y dinámica de poblaciones o reconstrucción ambiental, queda clara la influencia y el amplio espectro de aplicación de los otolitos en el campo de la investigación de las ciencias pesqueras (Campana 2005).

Los estudios de crecimiento larvario implican un alto coste tanto en tiempo como en capital humano (Bedford, 1983, Cardinale & Arrhenius 2004, Francis & Campana 2004) ya que requieren tanto un meticuloso proceso de extracción y montaje como la participación de personal cualificado para la obtención de resultados fiables en los procesos de lectura.

Una de las mayores fuentes de error en los procesos de asignación de edad larvaria por análisis de la microestructura de sus otolitos es consecuencia del factor subjetivo inherente al proceso de lectura. Esta subjetividad, junto a las diferencias en el proceso de preparación de las muestras y la interpretación de las variaciones de los cambios periódicos en las estructuras calcificadas, son los factores responsables de las diferencias de interpretación entre los distintos lectores (Boehlert 1985, Campana & Moksness, 1991, Cardinale & Arrhenius 2004).

Por tanto, la aplicación de un método de estimación de edad que disminuya los costes reduciendo a su vez el grado de subjetividad del proceso de lectura resultaría de gran interés en el ámbito de los estudios de crecimiento larvario.

## **1.5.- ECOLOGÍA TRÓFICA**

Las variaciones en las características tanto abióticas como bióticas del entorno en el que se desarrollan afectan las tasas de crecimiento de las larvas de peces (Pepin et al. 2015) siendo la disponibilidad de alimento uno de los factores más influyentes en el crecimiento larvario de las especies pelágicas (Hjort 1914).

Según Cushing (1996), en las poblaciones de peces, la magnitud del reclutamiento queda determinada en algún momento entre las últimas fases del desarrollo larvario y las primeras fases juveniles. Esto implica que la variabilidad del reclutamiento depende principalmente de los procesos que afectan a la supervivencia durante el periodo larvario (Munuera 2006) y varios estudios (Tudela & Palomera 1997, Pepín & Dower, 2007, Catalán et al. 2010) han confirmado que la disponibilidad de alimento es un factor limitante para la supervivencia durante estas primeras fases del desarrollo.

Así pues, la supervivencia de las larvas está condicionada por la abundancia de alimento entre el lugar de la puesta y en el que se desarrollan, de manera que la producción larvaria tiene que estar acoplada en el tiempo y en el espacio a la producción planctónica (Fig. 9, *Cushing 1972, 1990*).

En consecuencia, la descripción de la ecología trófica de las especies resulta crucial para entender su distribución, abundancia y función dentro del ecosistema (Costalago et al. 2012).

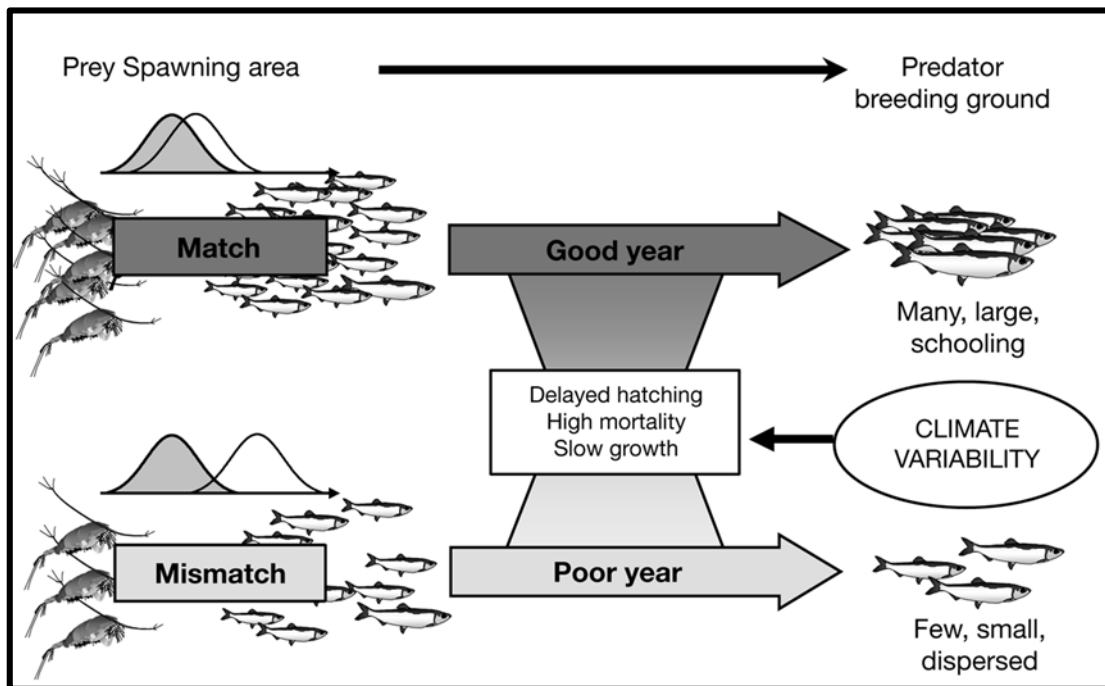


Fig 9.-: Diagrama de la hipótesis "Match-mismatch" en Durant et al. 2007

Varios estudios (Hobson et al. 1996, Abend & Smith 1997, Polunin et al. 2001) infieren que el análisis de isótopos estables del Carbono y del Nitrógeno supone una técnica muy útil para estudiar las relaciones tróficas en las redes alimentarias acuáticas ya que esta puede proporcionar una referencia de la alimentación asimilada por un organismo y la aplicación de estudios de análisis de isótopos estables (SIA) se utiliza en la actualidad para el estudio de la estructura de las redes tróficas y la trofodinámica en los ecosistemas marinos.

A los átomos de un mismo elemento con diferente número de neutrones en su núcleo y, por lo tanto, diferente masa atómica se les denomina isótopos de ese elemento. Cada elemento está compuesto por una mezcla de isótopos con diferente abundancia, los cuales pueden ser estables o radioactivos. En la naturaleza, la composición en isótopos estables de los elementos H, C, N, O y S (hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre) está dominada por el



isótopo ligero que supone más del 95% del total de átomos, siendo el pesado mucho menos abundante. La notación más común de los isótopos es  $^m\text{A}$ , donde el índice superior  $m$  es la masa atómica y  $A$  es el elemento.

En la presente tesis, los sistemas isotópicos empleados para el análisis de las muestras obtenidas son los del carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) y el nitrógeno ( $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ). En la mayoría de los estudios, las composiciones isotópicas se expresan en notación delta ( $\delta$ ), siendo:

$$\delta X = 1000 * (R_x - R_{\text{std}}) / R_{\text{std}} \text{ ‰}$$

Donde  $R_x$  es la razón (cociente) entre el isótopo pesado o raro y el ligero o abundante ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) en la muestra y  $R_{\text{std}}$  la razón (cociente) entre el isótopo pesado o raro y el ligero o abundante ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) en un patrón de referencia.

El patrón de referencia para  $\delta^{15}\text{N}$  es el nitrógeno del aire y para  $\delta^{13}\text{C}$ , la *Bellemnitella Americana*, un fósil tomado de la formación Cretaceous Peedee (PDB) en South Carolina (USA). Internacionalmente se define que  $\delta^{15}\text{N}_{\text{aire}} = 0 \text{ ‰}$  y que  $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}} = 0 \text{ ‰}$ . Basándonos en estos patrones internacionales podemos interpretar que cuando una muestra tiene un valor de  $\delta$  positivo está “enriquecida” en el isótopo pesado respecto al patrón y si el valor es negativo, esta “empobrecida” y su composición es más ligera que la del patrón (García-Tiscar 2009).

Además del contenido total en C y N, a través de la relación C:N se puede evaluar el estado nutricional de las larvas ya que ambos elementos son los principales responsables de la síntesis de lípidos y proteínas

respectivamente (Checkley 1984, von Westernhagen et al. 1998, Coombs et al. 1999, Kloppmann et al. 2002, Yúfera et al. 1999).

Los isótopos estables de nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) de los consumidores se ven enriquecidos con respecto a sus presas (Yoshii 1999, Kaehler et al. 2000, Gurney et al. 2001, Fredriksen 2003, Post 2002, Vanderklift & Ponsard 2003) y la diferencia entre los valores de los predadores y las presas es considerada como el enriquecimiento isotópico que se utiliza para calcular la posición trófica de los organismos dentro de las redes tróficas de cada ecosistema (Hobson & Welch 1992, van der Zanden et al. 2000, Post 2002). Asimismo, los de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) están relacionados con la producción primaria y es utilizado para determinar el origen de la fuente de carbono de las presas consumidas (Peterson & Fry 1987, France & Peters 1997, van der Zanden et al. 1999, Pinnegar & Polunin 2000).

A pesar de su utilidad en el estudio de la ecología trófica de las especies, la aplicación de los análisis de los isótopos estables durante las fases larvarias de las especies es aún escasa (Bode et al. 2007, Pepin & Dower 2007, Costalago et al. 2012, Laiz-Carrión 2013, Laiz-Carrión 2015).

## **1.6.- OBJETIVOS**

El objetivo general de esta tesis doctoral es el estudio de la variabilidad del crecimiento larvario de distintas poblaciones de anchoa (*Engraulis encrasicolus*) y sardina (*Sardina pilchardus*).

En base al objetivo general, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- *Análisis de la influencia de los factores ambientales en el crecimiento y condición larvaria de larvas de sardina*: estudio comparativo del crecimiento diario y su composición bioquímica entre larvas de sardina de tres zonas del Mediterráneo occidental (Ebro, Almería y Málaga) en relación con la temperatura, salinidad y disponibilidad de alimento. (Capítulo 2: *García A, Cortés D, Ramirez T, Guisande C, **Quintanilla J**, Alemany F, Rodriguez JM, Álvarez JP, Carpena A (2006) Field comparison of sardine post-flexion larval growth and biochemical composition from three sites in the W Mediterranean (Ebro river coast, bays of Almería and Málaga). Sci. Mar. 70(S2):79-91).*

- *Determinación la influencia del comportamiento trófico en el crecimiento de larvas de sardina*: estudio conjunto de crecimiento diario y composición en isótopos estables de larvas de sardina capturadas en un único arrastre en el Mar de Alborán para examinar la relación entre las diferencias somáticas y las variaciones tróficas a nivel intra-poblacional. (Capítulo 3: *Laiz-Carrión R, **Quintanilla JM**, Mercado JM, García A (2011) Combined study of daily growth variability and nitrogen-carbon isotopic signature analysis of schooling *Sardina pilchardus* larvae. J. Fish Biol. 79:869-914)*

- *Evaluación de la influencia de los factores ambientales y el comportamiento trófico en el crecimiento de larvas de anchoa*: análisis de la relación entre el crecimiento diario, la biometría de los otolitos, los isótopos estables tanto de las larvas como de su fuente de alimento junto con la temperatura y salinidad en dos poblaciones de larvas de anchoa del Mediterráneo occidental (Mar Catalán y Mar de Alborán) desde una perspectiva tanto intra como inter-poblacional (Capítulo 4: ***Quintanilla JM**, Laiz-Carrión R, Uriarte A., García A (2015) Influence of trophic pathways on daily growth*

*patterns of western Mediterranean anchovy *Engraulis encrasicolus* larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 531: 263-275).*

- *Optimización de la metodológica en la estimación de edades larvarias: propuesta de un modelo predictivo basado en el análisis de funciones discriminantes que permita estimar de la edad con altos porcentajes de acierto a partir de los valores somáticos y biométricos de los otolitos de las larvas (Capítulo 5: **Quintanilla JM**, Quintanilla LF, García A (2014) A semi-automated method for daily age estimation in larval populations by discriminant function models. Fish. Res. 157:7-12).*



## CAPÍTULO 2

# Comparación del crecimiento y composición bioquímica de larvas de sardina en tres áreas del Mediterráneo occidental

---



RECENT ADVANCES IN THE STUDY OF  
FISH EGGS AND LARVAE  
*M.P. Olivar and J.J. Govoni (eds.)*

SCIENTIA MARINA 70S2  
October 2006, 79-91, Barcelona (Spain)  
ISSN: 0214-8358

## Field comparison of sardine post-flexion larval growth and biochemical composition from three sites in the W Mediterranean (Ebro river coast, bays of Almería and Málaga)

ALBERTO GARCÍA<sup>1</sup>, DOLORES CORTES<sup>1</sup>, TEODORO RAMÍREZ<sup>1</sup>,  
CASTOR GUISANDE<sup>2</sup>, JOSÉ QUINTANILLA<sup>1</sup>, FRANCISCO ALEMANY<sup>3</sup>,  
JOSÉ MARÍA RODRÍGUEZ<sup>4</sup>, JUAN P. ÁLVAREZ<sup>1</sup> and ÁNGEL CARPENA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Español de Oceanografía, Aptdo. 285, 29640 Fuengirola, Málaga, Spain. E-mail: agarcia@ma.ieo.es

<sup>2</sup>Universidad de Vigo, Facultad de Ciencias, Dept<sup>o</sup> de Ecología y Biología Animal,  
Lagoas Marcosende, 36200 Pontevedra, Spain

<sup>3</sup>Instituto Español de Oceanografía, Muelle Pelaires, Palma de Mallorca, Spain

<sup>4</sup>Instituto Español de Oceanografía (Gijón, Asturias)

**SUMMARY:** Late larval stages of sardine (16-23 mm) were sampled during the 2003 spawning season in their nursery grounds located off the Ebro river mouth, on the Catalan coast, and in two bays of the Alborán Sea coasts, the Bay of Almería and the Bay of Málaga. The daily growth analysis of each sampled population revealed faster growth in the Ebro sardine larvae than in both of the Alborán Sea larval populations. This fact is supported by their greater content with age of DNA, RNA and protein. However, the significantly higher carbohydrate content of the Bay of Almería sardine larvae and a higher Fulton's index, indicative of energy storage of individuals, in both of the sardine populations sampled in the Bays of Almería and Málaga show evident differences in the daily growth of the Alborán Sea larvae from those originating in the Ebro region. Late larval growth in the Alborán Sea sardine tends to favour an increase in body mass rather than in body length. This study hypothesises that the productivity pulses off the Alborán Sea coasts induced by the north and northwestern wind regimes may be responsible for the growth pulses observed in the otolith microstructure.

**Keywords:** sardine larvae, Mediterranean, growth, DNA, RNA, proteins, carbohydrates.

**RESUMEN:** CRECIMIENTO Y CONTENIDO BIOQUÍMICO COMPARATIVO DE LARVAS EN POSTFLEXIÓN DE SARDINA DE TRES ZONAS DEL MEDITERRÁNEO OCCIDENTAL (EBRO, BAHÍAS DE ALMERÍA Y MÁLAGA). – Estados avanzados de larvas de sardina (de 16 a 23 mm) fueron muestreados durante el invierno de 2003 en zonas de alevinaje situadas en la desembocadura del río Ebro, en la costa catalana, y en las bahías de Almería y de Málaga, en las costas del Mar de Alborán. El análisis del crecimiento diario de cada población larvaria muestreada, evidencia un mayor crecimiento en las larvas procedentes del Ebro respecto a las nacidas en el Mar de Alborán. Esta observación se corrobora con un mayor incremento con la edad de los contenidos en DNA, RNA y proteínas de la población larvaria de sardina del río Ebro. Sin embargo, un contenido significativamente mayor de carbohidratos en la población de Almería, así como un mayor índice de Fulton, indicador de energía almacenada en un individuo, en ambas poblaciones del Mar de Alborán, evidencia una estrategia diferenciada de crecimiento de estas poblaciones larvarias con respecto a las procedentes del río Ebro. En consecuencia, las larvas de sardina del Mar de Alborán muestran una tendencia a crecer más en masa que en longitud, como lo evidencia el crecimiento relativo del peso seco. DNA, RNA y proteínas en relación con su longitud estándar. En este estudio se plantea la hipótesis de que los pulsos productivos en el Mar de Alborán, inducidos por el régimen de vientos de norte y poniente, pueden ser responsables de los pulsos de crecimiento larvario, como se evidencia en las microestructuras de los otolitos.

**Palabras clave:** sardina, larvas, Mediterráneo, crecimiento, DNA, RNA, proteínas, carbohidratos.





# CAPÍTULO 3

## Estudio combinado de la variabilidad del crecimiento larvario y la huella isotópica de Nitrógeno y Carbono en larvas de sardina

---





*Journal of Fish Biology* (2011) 79, 896–914  
doi:10.1111/j.1095-8649.2011.03048.x, available online at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)

## Combined study of daily growth variability and nitrogen–carbon isotopic signature analysis of schooling *Sardina pilchardus* larvae

R. LAIZ-CARRIÓN\*, J. M. QUINTANILLA, J. M. MERCADO AND A. GARCÍA

*Instituto Español de Oceanografía, Centro Oceanográfico de Málaga, Puerto Pesquero s/n, CP 29640 Fuengirola, Málaga, Spain*

(Received 22 October 2010, Accepted 26 May 2011)

A combined study of Alborán Sea *Sardina pilchardus* larval daily growth and isotopic signature was carried out to elucidate the cause of morphometric differences observed in a single larval school whereby the standard length ( $L_S$ ) v. dry mass ( $M_D$ ) relationship differentiated a heavier-by-size larval group from a lighter larval group. The daily growth analysis revealed that this difference originated from two larval growth patterns, where a fast growing population (F) in contrast to a slow-growing larval population (S) was distinguished. The S-growing larval cohort had a significantly higher nitrogen (N) content as a result of greater somatic mass build up with time in the form of structural proteins. Alternatively, the F-growing population showed a significantly greater amount of carbon (C) content with age, indicating faster metabolic rates of C accretion compared to the S-growing group. In consequence, the C:N ratios of the F-growing larvae were significantly higher than the S-group. C:N ratios of both larval populations showed significant linear decrease with age (and size), while  $K$  showed an inverse relationship. The stable isotopes of N did not show significant differences between the S and F-growing larvae. In F-growing larvae, however, a significant linear increase in  $\delta^{15}\text{N}$  (by age class) was observed, indicating that as larvae undergo ontogenetic development, trophic level tends to increase. This was also made evident by the significant decrease in age of  $\delta^{15}\text{N}$  coefficients of variation (by age class). The higher  $\delta^{13}\text{C}$  values in the S-growing larvae were related to the lower growth rates observed in this group. These results suggest a broader trophic flexibility in younger larvae, but moving towards a trophic specialization and more selective diets with age. This trophic specialization shows a tendency of a greater prey size with age. These findings suggest that S-growing larvae have a more omnivorous diet than the F-growing ones.

© 2011 The Authors

*Journal of Fish Biology* © 2011 The Fisheries Society of the British Isles

Key words: C:N ratios; daily growth; larval growth; sardine; stable isotopes; trophic level.

## INTRODUCTION

*Sardina pilchardus* (Walbaum 1792) is the most abundant small pelagic resource found in the Alborán Sea (Abad *et al.*, 1998). Moreover, it may be considered a key species of the neritic pelagic ecosystem, forming part of the mid-trophic level and contributing to the stabilization of the trophic web *via* wasp-waist control on the upper and lower trophic levels (Cury *et al.*, 2000; Bakun, 2006). During the past

\*Author to whom correspondence should be addressed. Tel.: +34 952 47 69 55; email: [raul.laiz@ma.ico.es](mailto:raul.laiz@ma.ico.es)



# CAPÍTULO 4

## Influencia de las interacciones tróficas en el patrón de crecimiento diario de larvas de anchoa del Mediterráneo occidental

---



This authors' personal copy may not be publicly or systematically copied or distributed, or posted on the Open Web, except with written permission of the copyright holder(s). It may be distributed to interested individuals on request.

Vol. 531: 263–275, 2015  
doi: 10.3354/meps11312

MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES  
Mar Ecol Prog Ser

Published July 2

## Influence of trophic pathways on daily growth patterns of western Mediterranean anchovy *Engraulis encrasicolus* larvae

J. M. Quintanilla\*, R. Laiz-Carrión, A. Uriarte, A. García

Centro Oceanográfico de Málaga, Instituto Español de Oceanografía, 29640 Fuengirola, Málaga, Spain

**ABSTRACT:** Late larval stages of anchovy *Engraulis encrasicolus* ranging from 10 to 20 mm standard length were sampled in the 2009 Mediterranean Acoustic Surveys project carried out during the spawning season off the Ebro River plume (NW Mediterranean [NWM] population) and the Bay of Málaga (SW Mediterranean [SWM] population). A combined study of environmental variables, daily growth, otolith biometry and stable isotope analysis (SIA) was undertaken to differentiate the trophic influence on larval growth rates. An inter-population comparative analysis determined trophic-based differences in their growth patterns. The NWM population showed a specialized prey selectivity associated with a low productive ecosystem in contrast to the SWM population, which showed a more generalist feeding behavior associated with an ecosystem of higher food resources. Moreover,  $\delta^{13}\text{C}$  values were significantly different between populations, indicating the different origin of carbon sources. The intra-population analysis, differentiating between an optimum and deficient growth group as defined by a prior residual analysis, showed a direct relationship between growth potential and feeding behavior. Higher growth rates registered significantly greater  $\delta^{15}\text{N}$  values and thereby showed a higher trophic position, indicating a greater feeding specialization in larvae originating from less productive regions. Such was not the case in the area of higher productivity. Furthermore, both populations showed that carbon sources were decisive in defining better growth potential. Finally, otolith biometry clearly differentiated between growth rates in the optimum and deficient larval growth groups.

**KEY WORDS:** European anchovy larvae · Western Mediterranean · Daily growth increments · Otolith microstructure analysis · Stable isotope analysis · Trophic position · Feeding behavior

Resale or republication not permitted without written consent of the publisher

### INTRODUCTION

Among the small pelagic species inhabiting the western Mediterranean waters, anchovy *Engraulis encrasicolus* and sardine *Sardina pilchardus* are the most abundant. From the socio-economic standpoint, anchovy is by far the more valuable economically (Leonart & Maynou 2003), thereby a preferential target of the fishery sector. These small pelagics are key species of the coastal pelagic ecosystems, channelling energy flow through a wasp-waist way to the upper and lower trophic levels (Curry et al. 2000, Bakun 2006). Moreover, they are fundamental to the

sustainability of top predators such as tunas by forming part of their diet (Logan et al. 2011), while exerting control on lower trophic levels by grazing and/or preying on the lower phytoplankton and zooplankton trophic levels (Tudela et al. 2002, Costalago et al. 2012).

In the Spanish NW Mediterranean (NWM) these species are mainly concentrated along the Catalanian and Gulf of Valencia shelf; and in the Alboran Sea located in the SW Mediterranean (SWM). On the basis of their physiographic and oceanographic regional differences, the General Fisheries Commission for the Mediterranean (GFCM) has determined

\*Corresponding author: jose.quintanilla@ma.ieo.es

© Inter-Research 2015 · www.int-res.com





# CAPÍTULO 5

## Método semiautomático de estimación de edad en poblaciones larvarias basado en modelos de funciones discriminantes

---





# A semi-automated method for daily age estimation in larval populations by discriminant function models

J.M. Quintanilla<sup>a</sup>, L.F. Quintanilla, A. García

<sup>a</sup> Instituto Español de Oceanografía – IEO, Apdo. 285, 29640 Fuengirola, Málaga, Spain

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 19 November 2013

Received in revised form 3 March 2014

Accepted 10 March 2014

### Keywords:

European anchovy larvae

Western Mediterranean

Daily growth

Discriminant functions

Age predictive model

## ABSTRACT

Discriminant analysis including the best age-correlated variables selected by SMLR's to construct a predictive model based on somatic and otolith biometry was applied. Age of anchovy larvae ranging from 10 to 12 mm collected along Western Mediterranean coasts during MEDIAS209 survey were estimated by otolith microstructure analysis and compared with the number of daily increments estimated by the model. The model compound by  $\text{Perimeter}^2 + \text{Area}^2$  was able to estimate correctly the age of the otoliths in 75% of the cases assuming  $\pm 1$  day of error increasing to 90% assuming  $\pm 2$  days of error with mean values of APE (3.33%) and CV (4.71%) systematically low. The results indicate the precision of the increment estimates. Moreover, no differences between the estimated ages from direct readings and those estimated by the model were observed. The proposed method implies a reduction in the subjectivity factor and the cost/benefit ratio for ageing studies in fish larvae.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

Survival at early life stages of fish is crucial for future recruitment success (May, 1974) in which larval growth has a determinant role. Thus, age determination in the early life stages of fish is amongst the most important biological variables because it is essential to estimate larval growth rates and mortality (Campana, 2001). Small variations in growth at early life stages affect larval mortality rates (Houde, 1987). Greater larval mortality may be due to greater prolongation of time spans within vulnerable larval sizes and greater ontogenic stage duration (Chambers and Leggett, 1987; Folkvord and Hunter, 1986; Hare and Cowen, 1995). Low growth rates may be the cause of greater mortalities recorded in field studies (Campana, 1996; Hovenkamp, 1992; Miller et al., 1988; Rice et al., 1993; Wilson and Meekan, 2002). Thus, greater survival probability can occur with faster growth rates by decreasing inanition and predation exposure times as postulated by the growth–mortality hypothesis (Anderson, 1988). In conclusion, it may be assumed that there is a strong relationship between larval growth and recruitment success (Bergienius et al., 2002; García et al., 2003).

Age estimation by otoliths is paramount to fisheries science. Ages of around a million fish are estimated yearly by the

interpretation of otoliths (Campana and Thorrold, 2001). Otoliths are the most reliable bony part in fish to estimate age, and particularly in larvae by the analysis of their microstructure (Campana, 1999; Campana and Neilson, 1985; Secor et al., 1995). This implies a meticulous process of extraction and mounting of otoliths. The complexity of the process consumes time and the interpretation of daily increments requires expert qualifications (Megalofonou, 2006). As a result, age determination in larval fish implies a high cost/benefit analysis per otolith (Bedford, 1983; Cardinale and Arthenius, 2004; Francis and Campana, 2004).

One of the most common sources of error relies on the subjective criteria that an age reader may have. Subjectivity, together with the differences in preparation process of otoliths and the variability of the interpretation of the periodic changes shown in calcified structures are among the major sources of between different age readers' age estimates (Boehlert, 1985; Campana and Moksness, 1991; Cardinale and Arthenius, 2004). However, otolith measurements show better correlations with age than the somatic measurement variables (Boehlert, 1985). The inclusion of otolith morphometry in age determination can produce more objective and precise age estimates (Doering-Arjes et al., 2008). Although different authors have proposed models for estimating age from otolith morphometry (Fletcher, 1995; Pawson, 1990; Stuart and Ord, 1991; Worthington et al., 1995), the main objection relied on the low proportion of correct age estimates (Francis and Campana, 2004).

Discriminant function analysis allows classifying individuals of unknown origin into groups by using discriminant functions

\* Corresponding author. Tel.: +34 952 19 87 53; fax: +34 952 463808.

E-mail addresses: [jose.quintanilla@ma.ieo.es](mailto:jose.quintanilla@ma.ieo.es) (J.M. Quintanilla),

[agarcia@ma.ieo.es](mailto:agarcia@ma.ieo.es) (A. García).

## CAPÍTULO 6

### Discusión

---



La mayoría de especies de pequeños pelágicos, y en particular la sardina y la anchoa, sufren importantes variaciones interanuales en la abundancia de sus poblaciones (Lluch-Belda et al. 1989, Schwartzlose et al. 1999, Chavez et al. 2003, Martín et al. 2012, Petitgas et al. 2012, Garrido & van der Lingen 2014). La abundancia y viabilidad de las poblaciones de sardina y anchoa a lo largo del tiempo dependen de la variabilidad en su reclutamiento (Peck et al. 2012), es decir, del número de individuos que cada año se incorporan a la fracción reproductora de la población (Myers 2002).

Tanto en anchoa como en sardina, al igual que en otros teleósteos, las primeras fases del desarrollo representan el periodo en el que se ven sometidas a las mayores tasas de mortalidad a lo largo de todo su ciclo vital (McGurk 1986) y provocan que casi la totalidad de la puesta no sobreviva al primer año de vida (Houde 1987) lo que tiene una influencia decisiva en el reclutamiento. En consecuencia, gran parte del éxito en el reclutamiento puede ser atribuido a los factores que determinan cambios en la incidencia de la mortalidad durante estas primeras etapas del desarrollo (Blaxter & Hunter 1982, Houde & Hoyt 1987, Cushing & Horwood 1994) por encima de los efectos derivados de la mortalidad provocada por la presión pesquera (Cingolani et al. 1996, Sharp & McLain 1993, Southward et al. 1998).

Durante estas primeras etapas, la supervivencia de los estadios larvarios juega un papel fundamental (May 1974, Bailey & Houde 1989, Munuera 2006) ya que representa un cuello de botella (Anderson 1988, Legget & Deblois 1994, Houde 2008) en el que se produce una drástica reducción en el número de individuos. En este sentido, la variabilidad en la proporción de individuos

capaces de sobrevivir desde el momento de la eclosión hasta alcanzar el estado adulto determina la fuerza del reclutamiento.

Por tanto, la identificación de las principales causas de mortalidad durante las fases larvarias resulta fundamental en la comprensión y la capacidad para predecir el éxito en el reclutamiento de estas especies (Caldeira et al. 2014).

Los principales factores responsables de las altas tasas de mortalidad larvaria son debidos a procesos de inanición y depredación (Anderson 1988, Bailey & Houde 1989, Leggett & DeBlois 1994, Peck & Hufnaugl 2012). La inanición tiene su máxima influencia durante un corto espacio de tiempo denominado como “periodo crítico” (Hjort 1914, 1926) una vez que la larva ha agotado sus reservas vitelinas y su supervivencia depende de su capacidad para alimentarse de manera exógena. Por otro lado, la mortalidad por depredación actúa durante un periodo de tiempo más prolongado (Cushing 1990) lo que hace que sea considerada como la principal causa de mortalidad durante las fases larvarias (Bailey & Houde 1989, Fortier & Villeneuve 1996, Takasuka et al. 2004, Houde 2008).

En consecuencia, el estudio de los procesos que limitan la influencia de estos factores sobre las poblaciones larvarias y condicionan su éxito en el reclutamiento resulta fundamental (Houde 2008) el ámbito de la ecología larvaria.



### 6.1.- Crecimiento larvario

La relación entre el crecimiento y la supervivencia ha sido un tema de estudio esencial durante los últimos años desde que se demostró que pequeñas variaciones de las tasas de crecimiento durante las fases larvarias pueden originar alteraciones decisivas en el reclutamiento de las especies (Houde 1987, 1989a).

Según la hipótesis de Anderson (1988), las poblaciones larvarias con mayores tasas de crecimiento originan individuos más grandes con menor tasa de mortalidad que los más pequeños (Miller et al. 1988) que acortarían su fase larvaria y, por tanto, su exposición a una ventana de máxima depredación, lo que aumentaría sus probabilidades de supervivencia (Folkvord & Hunter 1986).

Esta hipótesis ha sido comprobada en numerosas especies tanto por estudios de campo (Healey 1982, Post & Prankevicius 1987, West & Larkin 1987, Campana 1996, Meekan & Fortier 1996, Hare & Cowen 1997, Miller et al. 1988, Hovenkamp 1992, Sirois & Dodson 2000, Searcy & Sponaugle 2001, Wilson & Meekan 2002, Allain et al. 2003, Baumann et al. 2003, Oozeki et al. 2003, Tanaka et al. 2006, Robert et al. 2007) experimentos de laboratorio (Rosenberg & Haugen 1982) y estudios de simulación (Rice et al. 1993).

Asimismo, diversos estudios han determinado como las tasas de crecimiento determinan la supervivencia larvaria de las especies de pequeños pelágicos, y más concretamente, de la anchoa y la sardina (Allain et al. 2003, Takasuka et al. 2003, García et al. 2003, Takahashi & Watanabe 2004, Alemany et al. 2006, Takasuka & Aoki 2006, Palomera et al. 2007, García et al. 2007, La Mesa et al. 2009).

Por consiguiente, si las tasas de crecimiento son responsables de la variabilidad en la supervivencia larvaria, dichas tasas deben de tener una incidencia decisiva sobre los principales factores que provocan su mortalidad.

Desde el punto de vista del crecimiento, la mortalidad es dependiente de la talla (Luecke et al.1990, Takasuka et al. 2003) particularmente en los rangos de talla en lo que se encuentra comprendido el ictioplancton (Peterson & Wroblewski 1984, McGurk 1986). Es más, experimentos de laboratorio han demostrado como, independientemente de la especie predadora, la vulnerabilidad del ictioplancton es máxima cuando las larvas presentan el 10% de la talla del depredador (Paradis et al. 1996).

En consecuencia, si la vulnerabilidad de las presas desciende con la talla (Bailey & Houde 1989, Arim et al. 2011) aquellas larvas con crecimientos más rápidos alcanzarían antes mayores tallas lo aumentaría sus probabilidades de supervivencia (Chambers & Leggett 1987, Houde 1989b) al reducir su mortalidad por depredación. Asimismo, un crecimiento rápido mejora su capacidad para escapar de depredadores en comparación con larvas de menor tamaño (Miller et al. 1988, Bailey & Houde 1989, Chick & van Den Avyle 2000). Además, larvas de mayor tamaño presentan mayor tolerancia a la inanición al tener con una mayor capacidad para alimentarse en comparación con larvas más pequeñas (Hunter 1972, Folkvord et al. 1997, Pitchford & Brindley 2001).

Las conclusiones de estos estudios reflejan el hecho de que la mortalidad no ocurre al azar, sino que se eliminan de manera selectiva a los individuos más pequeños y con menor tasa de crecimiento dentro de cada cohorte (Takasuka et al. 2003, Meekan et al. 2006).

Según los resultados de nuestros análisis interpoblacionales a través del análisis de la microestructura de sus otolitos para la asignación de edad, las larvas de sardina capturadas en la zona de influencia del río Ebro presentan un crecimiento significativamente mayor tanto en talla como en peso en comparación con las larvas del Mar de Alborán (Capítulo 2; Fig 4).

Por el contrario, en el caso de las larvas de anchoa, son las del Mar de Alborán las que presentan un mayor crecimiento en talla en comparación con las larvas del Mediterráneo occidental pero, en este caso, no se detectan diferencias en el peso por clase de edad (Capítulo 4; Fig 3).

Por tanto, al considerar las poblaciones de sardina y anchoa con mayores tasas, pueden determinarse diferencias en las estrategias de crecimiento a nivel inter-específico por la que las larvas de sardina presentan un mejor crecimiento mientras las larvas de anchoa presentan un crecimiento más rápido. Además, desde un punto de vista intra-específico, las diferencias en los patrones de crecimiento observados durante sus fases larvarias junto con los resultados previos de análisis genéticos (Ramón & Castro 1997), de aminoácidos (Riveiro et al. 2011) y de su distribución (Tugores et al. 2010, Giannoulaki et al. 2013), apoyarían la hipótesis por la que la poblaciones septentrional y meridional son consideradas dos subpoblaciones independientes de la misma especie.

En ninguno de los dos casos los mayores crecimientos somáticos se manifiestan en el crecimiento relativo. Tanto en el caso de la sardina como en el caso de la anchoa son las poblaciones con crecimientos más lentos aquellas que presentan un mayor peso por unidad de talla. Esto es debido precisamente

al menor potencial de crecimiento de dichas poblaciones ya que para una determinada clase de talla, al crecer más lentamente, estas larvas tienen mayor edad y han acumulado un mayor peso que aquellas que crecen a una tasa superior.

Por tanto, en base a los estudios que relacionan el crecimiento con la supervivencia, podemos concluir que las larvas de sardina de la zona del Ebro y las de anchoa del Mar de Alborán que presentan mayores tasas de crecimiento tendrían una mayor capacidad para soportar procesos de inanición y ser menos vulnerables a la depredación y, en consecuencia, una mayor probabilidad de sobrevivir a las fases larvarias y llegar a formar parte del reclutamiento del año siguiente.

Las diferencias en el crecimiento larvario serían consecuencia de la adaptación poblacional a las características del ecosistema en el que se desarrollan (Clemmesen et al. 1997, Kimura et al. 2000, Chicharo et. al. 2003, Rossi-Wongtschowski et al. 2003, Catalán et al. 2006, Pepin et al. 2015) por lo que el estudio de los factores ambientales propios de cada área de estudio resulta imprescindible para interpretar las diferencias observadas en las tasas de las distintas poblaciones.

## **6.2.- Factores ambientales**

El estudio de las relaciones entre los factores ambientales y como la larva crece y sobrevive, y como esto queda reflejado en el reclutamiento ha sido el objeto de numerosos trabajos durante las pasadas décadas (Govoni 2005).

Las especies de pequeños pelágicos son especialmente sensibles a cambios en las condiciones ambientales (Regner 1996, Agostini 2000, Lloret et al. 2004, Santojanni et al. 2006, Engelhard et al. 2014) y alteraciones en dichos factores durante las fases larvarias provocan fuertes variaciones en su reclutamiento (Palomera et al. 2007).

El crecimiento es la consecuencia de un estado nutricional resultante de los factores bióticos y abióticos del ecosistema en el que se desarrolla el organismo junto con el efecto de la calidad parental (Høie et al. 1999).

Avanzando en nuestro razonamiento, si la supervivencia durante los estadios larvarios tiene una influencia determinante en el reclutamiento de estas especies, las variaciones de las condiciones ambientales provocarían cambios en sus tasas supervivencia a través de su influencia en las tasas de crecimiento larvario.

Los factores ambientales con mayor influencia en el crecimiento larvario son la temperatura y la disponibilidad de alimento (Buckley 1984, Heath 1992, Campana 1996, Rilling & Houde 1999, Jobling 2002, Takasuka & Aoki 2006, Schismenou et al. 2014).

Se ha comprobado como mayores temperaturas aceleran las tasas de crecimiento de los pequeños pelágicos durante sus fases larvarias (Takahashi et al. 2012). La variación de los datos de temperatura en las épocas de puesta entre las zonas consideradas en nuestro estudio es inexistente o inferior a 1°C, por lo que las diferencias observadas en las tasas de crecimiento no pueden ser atribuidas a dichas diferencias. En este tipo de situaciones, en que la temperatura de las áreas comparadas es similar, las diferencias en tasas de

crecimiento vendrían determinadas por el éxito alimenticio de las larvas (García et al. 2003, Pepin & Dower 2007, Catalán et al. 2010).

Las especies de pequeños pelágicos, debido a sus altas tasas de mortalidad asociadas al potencial de crecimiento y que tanto los adultos (Whitehead 1985, Tudela & Palomera 1997) como las larvas (Conway et al. 1991, 1998) se alimentan de plancton, se ven muy afectadas por alteraciones en los ciclos de producción primaria (Hunter & Alheit 1995).

La supervivencia larvaria depende de su capacidad para encontrar, capturar e ingerir suficiente cantidad de presas para evitar la inanición y aumentar sus tasas de crecimiento (Blaxter 1963, Checkely 1982, Pryor & Epifano 1993) por lo que podemos asumir que cambios en la cantidad y composición de la biomasa planctónica afecta tanto a su crecimiento como a su alimentación y, en consecuencia, a su supervivencia (Fuiman & Cowan 2003).

La disponibilidad de alimento viene determinada por la batimetría y los procesos de fertilización propios de cada área, que sufren importantes variaciones tanto estacionales como interanuales (Arnau 2000, Rubio et al. 2005) por lo que supone un factor primordial en el éxito del reclutamiento. Desde el momento en que las larvas agotan sus reservas vitelinas, pasan a depender exclusivamente de la alimentación exógena (Hjort 1914) a lo largo de todo su desarrollo larvario (Cushing 1975, 1990) en el que el acoplamiento/desacoplamiento (match/mismatch) de las larvas con sus presas determina la fuerza del reclutamiento.

Larvas que se desarrollan en ecosistemas con alta disponibilidad de presas son capaces de mantener altas tasas de crecimiento (Owen 1989,

Lough & Broughton, 2007, Young et al. 2009) mientras que habitats con limitación de nutrientes provocan mayores mortalidades tanto por inanición (Anderson 1994, Fortier et al. 1995) como de manera indirecta al reducir sus tasas de crecimiento y prolongar el estado larvario en el que los individuos son especialmente vulnerables a la depredación (Munk 1997, Peck et al. 2012, Nunn et al. 2012).

Las larvas de sardina en la población septentrional presentan un mejor crecimiento asociado a una mayor disponibilidad de alimento debido al efecto conjunto de los fenómenos de mezcla originados por los fuertes vientos (Astraldi & Gasparini 1992) junto con el importante aporte fluvial del río Ebro que proporcionan un sustancial aporte de nutrientes a nivel superficial durante los meses de invierno (Margalef 1968, Estrada et al. 1985, Estrada 1996, Salat 1996). En cambio, durante esta época, en el Mar de Alborán la entrada del agua Atlántica se encuentra en valores mínimos (Parrilla & Kinder 1987) y los fenómenos de enriquecimiento dependen casi en exclusiva de los pulsos de producción originados por la alternancia de vientos de componente oeste o ponientes (que favorecen fenómenos de afloramiento costero) y este o levantes (desfavorables para el crecimiento larvario).

Por el contrario, las larvas de anchoa presentan mejores crecimientos en el Mar de Alborán durante el verano asociado al máximo flujo de entrada de las aguas Atlánticas lo que intensifica los fenómenos de fertilización en el sistema de bahías de la costa norte del Mar de Alborán (Cortés et al. 1985, Minas et al. 1991, Rodríguez et al. 1994, 1998, García-Górriz & Carr 2001, Ruiz et al. 2001) (Capítulo 4; Fig 7) en comparación con la zona de la desembocadura del Ebro donde el calentamiento de las aguas y el descenso de los vientos durante esta

época tiene como consecuencia una fuerte estratificación que impide los fenómenos de mezcla y provoca el agotamiento de los nutrientes en superficie coincidiendo con el mínimo estacional del aporte fluvial del río Ebro (Salat 1996). Es más, la disminución de la descarga del río Ebro durante los últimos 40 años ha sido apuntada como una de las principales causas de la reducción de la población local de anchoa (Lloret et al. 2004).

Por tanto, desde el punto de vista del crecimiento larvario y según las características ambientales durante sus épocas de puesta, la zona septentrional supone un hábitat más adecuado para el desarrollo de las larvas de sardina mientras el Mar de Alborán supone un ecosistema más propicio para alcanzar y mantener altas tasas de crecimiento en las larvas de anchoa.

### **6.3.- Biometría de los otolitos**

Los otolitos representan un registro de la trayectoria del crecimiento durante las fases larvarias (Degens et al. 1969, Dunkelbeger et al. 1980, Watanabe et al. 1982, Mugiya 1987) cuyo tamaño viene determinado por la anchura de los incrementos depositados que, a su vez, se ven influidos por factores ambientales y fisiológicos (Campana & Neilson 1985) entre los que destacan la temperatura y la disponibilidad de alimento (Neilson & Geen 1985, Stenevik et al. 1996, Fitzhugh et al. 1997, Folkvord et al. 2000, 2004, Fey, 2006, Maillet & Checkley 1990, Clemmesen & Doan 1996, Dickey & Isely 1997, Reichert et al. 2000) siendo la temperatura el factor con mayor relevancia en el crecimiento de los otolitos (Folkvord et al. 2000, Wright et al. 2001, Otterlei et al. 2002).



En el caso de las larvas de sardina, la población con mayores tasas de crecimiento capturadas en la desembocadura del Ebro, presentan otolitos más grandes como consecuencia de que deposita incrementos diarios de mayor tamaño lo que sería reflejo de su mayor potencial de crecimiento (Takahashi & Watanabe 2004, García et al. 2007).

Como ya hemos citado anteriormente, el contraste de temperaturas entre ambas zonas de estudio es mínimo o inexistente, por lo que las diferencias observadas en tamaño de los incrementos estarían relacionadas con un mayor crecimiento en un ecosistema con mayor concentración de nutrientes.

Por el contrario, en el caso de las larvas de anchoa, las diferencias en la estrategia de crecimiento no quedan reflejadas en la biometría de los otolitos para los que no existen diferencias ni el radio ni el tamaño de los incrementos depositados entre las poblaciones.

Algunos autores (Fey 2001) han observado como el tamaño del otolito depende casi en exclusiva de la temperatura mientras que las variables somáticas responden más a una combinación de variables como la temperatura, la disponibilidad de alimento o cambios derivados de las distintas fases del desarrollo ontogénico. Nuestros resultados están en consonancia con estudios previos realizados para la misma especie (García et al. 2003) por los que las diferencias significativas en las tasas de crecimiento entre dos poblaciones que se desarrollan similar régimen de temperaturas no se vieron reflejadas en el tamaño de sus otolitos.

Sin embargo, según los resultados de los análisis a nivel intra-poblacional, aquellas larvas de anchoa con mejores crecimientos presentan otolitos más grandes (mayor radio, área y perímetro) y con incrementos medios de mayor tamaño reflejo de su mayor potencial de crecimiento en ambas poblaciones. Por tanto, que las diferencias no sean patentes a nivel inter-poblacional puede ser debido a la gran variabilidad en las tasas de crecimiento y los tamaños de otolitos entre ambas poblaciones que podrían enmascarar estas diferencias.

A la vista de estos resultados, es posible deducir que el reflejo en el tamaño de los otolitos del éxito alimenticio entre poblaciones que se desarrollan en áreas sin contraste de temperatura, es más patente en las larvas de sardina durante la época invernal asociado a temperaturas más frías que para las larvas de anchoa que se desarrollan durante los meses de verano en aguas más cálidas.

#### **6.4.- Factores de condición**

En el campo de la ecología larvaria existen numerosos índices de condición para estimar su estado nutricional aunque ninguno pueda ser considerado el más adecuado ya que cada uno ofrece distinta información del estado fisiológico de los individuos (Ferron & Leggett 1994).

En este estudio se han empleado tres de ellos: RNA/DNA (Ramírez et al 2001, 2004, Cortés 2006), C/N (Checkley 1984, von Westernhagen et al. 1998, Coombs et al. 1999, Kloppmann et al. 2002) y el índice de Fulton (Ricker 1975).

El cociente RNA/DNA es un índice de la tasa metabólica celular que informa sobre la síntesis proteica por célula y se basa en la asunción de que la

cantidad de DNA permanece estable mientras la cantidad de RNA, directamente relacionada con la síntesis de proteínas, sufre variaciones con el estado nutricional de los organismos. (Ramírez et al 2001, 2004, Cortés 2006, Chicharo et al 1998, Catalán et al. 2006, Chicharo & Chicharo 2008a, 2008b).

Nuestros resultados están en consonancia los de estudios anteriores (Buckley 1984, Hovemkamp & Wiite 1991, Westerman & Holt 1994, Catalán 2006) e indican que las larvas de sardina con mayores tasas de crecimiento presentan mayores valores de RNA/DNA y, por tanto, un mejor factor de condición que las larvas con menores tasas de crecimiento.

El cociente de C/N ha sido usado como factor de condición porque ambos elementos son los principales responsables de la síntesis de lípidos y proteínas respectivamente (Checkley 1984, von Westernhagen et al. 1998, Coombs et al. 1999, Kloppmann et al. 2002) y sufren descensos graduales por procesos de inanición. La premisa simplificada es que larvas con mayor cantidad de reservas contendrán mayores proporciones de sustancias lipídicas lo que aumentaría su valor de C/N. De igual modo, larvas con un mayor crecimiento somático, sintetizan mayores cantidades de proteína estructural y los C/N disminuyen. Por último el índice de Fulton (Ricker 1975) es un índice morfométrico que relaciona la condición con la relación entre la talla y el peso de los individuos.

Con respecto a estos dos últimos estimadores del factor de condición, nuestros análisis ofrecen resultados contradictorios que originan distintas interpretaciones en los que, por ejemplo, larvas con tasas de crecimiento deficientes presentan mayores valores de C/N o como, para un mismo grupo

de larvas, los índices de Fulton y C/N ofrecen resultados inversos y presentan un comportamiento totalmente contrario al relacionarlos con la edad (Capítulo 3; Fig. 6a y 7)

Estas discrepancias pueden ser debidas a la complejidad de las rutas metabólicas tanto del C como del N que son propias para cada especie y distintas según la etapa del desarrollo (Ferron & Leggett 1994) o estar condicionados por una determinada estrategia de crecimiento más que servir como reflejo del estado nutricional. Por tanto, en base a nuestros análisis, distintos índices de condición pueden ofrecer resultados opuestos por lo que deben de ser interpretados con precaución.

### **6.5.- Ecología trófica**

La comprensión de la relación entre el crecimiento y la ecología trófica de las especies resulta fundamental para entender su desarrollo espacio-temporal dentro de los ecosistemas (Costalago 2011). El comportamiento trófico de las larvas de peces se ve condicionado por múltiples factores como la ontogenia, morfología y etología junto con la disponibilidad de presas o la complejidad del hábitat en el que se desarrollan (Nunn et al. 2012).

La mayoría de los estudios llevados a cabo en relación a la ecología trófica de estadios larvarios en pequeños pelágicos se han basado en el estudio de sus contenidos estomacales (Tudela & Palomera 1997, Conway et al. 1998, Plounevez & Champalbert 2000, Borme et al. 2009, Morote et al. 2010).

La aplicación de esta técnica implica algunos problemas como tener que trabajar con un alto porcentaje de larvas con sistemas digestivos vacíos

(Blaxter 1969b, Voss et al. 2009, Morote 2010) debido a que el sistema de muestreo provoca la regurgitación o defecación de las larvas (Fernández & Gonzalez-Quirós 2006, Morote et al. 2010, Borme et al. 2013). Además provocan la subestimación de presas de fácil digestión que no son detectados en este tipo de estudios a pesar de formar parte de la dieta (Figuereido et al. 2005, Pepin & Dower 2007, Montagnes et al. 2010).

Una alternativa a los estudios de contenido estomacal para determinar los patrones tróficos deriva del estudio de los isótopos estables de N y C que permite la estimación de los niveles tróficos y las fuentes de carbono de los consumidores en la cadena trófica (Post 2002, Costalago et al. 2012)

Los análisis de isótopos estables son muy utilizados para estudiar las dinámicas tróficas ya que en los tejidos de los consumidores queda reflejada la huella isotópica de las presas (Fredriksen 2003). Los niveles  $\delta^{15}\text{N}$  indican la posición de los consumidores dentro de la cadena trófica según el enriquecimiento con respecto a sus presas (Post 2002) mientras  $\delta^{13}\text{C}$  se relaciona con la producción primaria y determina el origen de las presas consumidas (Pinnegar & Polunin 2000).

Tanto la anchoa como la sardina son especies plantófagas a lo largo de sus distintos estados de desarrollo y se alimentan de un amplio rango de especies (Rasoanarivo et al. 1991, Tudela & Palomera 1995, Plounevez & Champalbert 2000, Costalago et al. 2012, 2014) por lo que la separación en el tiempo de sus épocas de puesta representa una estrategia para evitar la competición por el alimento durante fases larvarias (Costalago et al. 2012).

A pesar de que la dieta de las larvas depende de la abundancia y diversidad de presas disponibles, pocas especies se alimentan de la totalidad las especies de presas disponibles o en una proporción similar a la presente en el medio, lo que implica un proceso de selección por parte de las larvas en su comportamiento trófico (Peck et al. 2012). En este sentido, la mayoría de estudios referidos a la alimentación larvaria determinan que el zooplancton, en especial los copépodos en distintos estadios, constituyen la parte fundamental de la dieta de las larvas de sardina y anchoa (Conway et al. 1994, Tudela 2002, Fernández & Gonzalez-Quirós 2006, Voss et al. 2009, Borme et al. 2009, Catalán et al. 2010, Morote 2010, Costalago 2010).

El enriquecimiento isotópico se calcula por la diferencia entre los datos de  $\delta^{15}\text{N}$  de las larvas y sus presas potenciales. Una primera interpretación de los resultados de enriquecimiento indicarían que, durante las primeras fases del crecimiento, las larvas de sardina depredarían sobre las comunidades fitoplanctónicas (Rasnarivo et al. 1991) y sugerirían la importancia del fitoplancton en su dieta a pesar de no ser detectado en los estudios de contenidos estomacales tanto por su rápida digestión como por problemas relacionados con los métodos de conservación de las muestras (Pepin & Dower 2007, Peck et al. 2013). Por el contrario, los resultados obtenidos para las larvas de anchoa con respecto a sus presas potenciales corroborarían la hipótesis de que la principal fuente de alimento de las larvas de anchoa viene representada por la fracción zooplanctónica.

En el caso de las larvas de sardina se utilizó como estimador del nivel basal un valor bibliográfico calculado para la fracción inferior de 200  $\mu\text{m}$  en la misma época y área en la que fueron capturadas las larvas (Mercado et al.

2010). Esta fracción engloba las fracciones nanoplanctónica (5-55  $\mu\text{m}$ ) y microplanctónica (55-200  $\mu\text{m}$ ). En cambio, para las larvas de anchoa, los valores basales se calcularon de manera directa a partir de muestras exclusivamente de la fracción microplanctónica obtenidas en campaña para cada punto de muestreo en los que fueron capturadas las larvas.

Los niveles de  $\delta^{15}\text{N}$  se correlacionan positivamente con el tamaño de los organismos dentro de las cadenas tróficas marinas (Bode et al. 2004). En consecuencia, el menor nivel basal en el caso de las larvas de sardina puede ser debido a los organismos de pequeño tamaño que componen la fracción nanoplanctónica incluidos para su determinación. Esta fracción del plancton está compuesta en su mayoría por especies fitoplanctónicas cuyos valores de  $\delta^{15}\text{N}$  son bajos y altamente variables (Bode et al. 2007) lo que provocaría una sobrestimación del enriquecimiento isotópico no relacionado con el comportamiento trófico en estas larvas. Por tanto, teniendo en cuenta las diferencias en el cálculo de los niveles basales, nuestros resultados sugerirían que las dietas de las larvas de ambas especies parecen estar basadas en la fracción zooplanctónica.

A la vista de nuestros resultados, el estudio de la determinación de la dieta durante las fases larvarias de los peces requiere de una mayor investigación y la aplicación de nuevas técnicas. Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de los niveles basales sufren grandes variaciones tanto espaciales como estacionales (Mercado et al. 2010) por lo que, para obtener resultados fiables, los estudios de análisis de isótopos en tejido requieren el muestreo simultáneo de las larvas junto con las fracciones planctónicas que representan su alimento potencial.

Esta exigencia de la técnica implica un mayor esfuerzo de muestreo incrementando el número de muestras a procesar.

Una posible mejora en este aspecto sería la aplicación del análisis de isótopos en componentes específicos como los aminoácidos. Estos análisis ofrecen unos resultados similares a los análisis de isótopos en tejido (Popp et al. 2007, McMahon et al. 2010, Morrison et al. 2010) y permiten calcular el enriquecimiento sin la exigencia de muestrear los niveles basales ya que la huella isotópica de la base de la cadena trófica queda reflejada en los aminoácidos fuente (fenilalanina, glicina o histidina) de las larvas (McClelland & Montoya 2002).

Los niveles de  $\delta^{15}\text{N}$  de las distintas fracciones planctónicas se incrementan según aumenta su tamaño (Bode et al. 2004, 2007). Nuestros resultados estarían en consonancia con estudios previos (Conway et al. 1994, Munuera 2006, Fernández & González Quirós 2006, Morote et al. 2010) y sugieren que, a lo largo del desarrollo larvario, los individuos tienden a especializar su comportamiento trófico lo que queda reflejado en un incremento de sus niveles de  $\delta^{15}\text{N}$  debido al aumento en el tamaño de las presas capturadas.

Los resultados del estudio conjunto de crecimiento diario junto con análisis de isótopos estables entre dos grupos de larvas de sardina de la misma cohorte no permitieron inferir que las diferencias observadas entre sus patrones de crecimiento tuviesen una base trófica ya que no se observaron diferencias en sus valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y las observadas en los valores  $\delta^{13}\text{C}$  fueron atribuidas a la influencia de las distintas tasas de crecimiento o metabolismo



(Olive et al. 2003) y no originadas por cambios en la dieta (DeNiro & Epstein 1978, McConnaughey & McRoy, 1979, Focken & Becker, 1998; Lorrain et al. 2002). Estos análisis comparan grupos de larvas que proceden de un único arrastre por lo que podemos asumir que se han desarrollado en un entorno similar y, por tanto, dichas diferencias tampoco podrían ser atribuidas a diferencias en las condiciones ambientales.

Las tasas de crecimiento de las larvas implican un importante componente genético (Guisande et al. 1998, Riveiro et al. 2000, Garrido et al. 2007) por lo que la calidad parental influye tanto en el crecimiento como en la alimentación y, en consecuencia, en la supervivencia (Chambers & Waiwood 1996, Kerrigan, 1997, Berkeley et al. 2004, Burt et al. 2011).

De ahí que una posible hipótesis para explicar las diferencias en los patrones de crecimiento entre los grupos de sardina tendría una base genética y supondría el reflejo de una estrategia adaptativa de la especie a las características de la zona de puesta para asegurar la supervivencia de las poblaciones (Crean & Marshall 2009). Según esta hipótesis, una porción de la población larvaria aprovecharía de manera instantánea la disponibilidad de nutrientes para potenciar su metabolismo de proteínas lo que quedaría reflejado en un mayor crecimiento en talla (apoyado con una mayor concentración en %C), mientras otro grupo primaría el metabolismo de lípidos con un mayor crecimiento en peso por acumulación de estructuras de reserva que le permitiera afrontar la gran variabilidad en los ciclos de producción fitoplanctónica del Mar de Alborán (Bosc et al. 2004).

Por el contrario, las diferencias en las tasas de crecimiento observadas entre dos poblaciones de anchoa pueden ser explicadas desde un punto de vista trófico. Las larvas que se desarrollan en un área con menor disponibilidad de alimento presentan menores tasas de crecimiento asociadas a un comportamiento trófico más especialista reflejado en sus mayores valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y un mayor nivel trófico. En cambio, las larvas del Mar de Alborán en hábitat con mayor disponibilidad de nutrientes tienen unas mayores tasas de crecimiento asociadas a un comportamiento trófico más generalista. Además, las diferencias en el  $\delta^{13}\text{C}$  entre ambas poblaciones muestran diferencias en el origen de las fuentes de carbono de sus presas. Por tanto, el comportamiento trófico parece estar condicionado por la disponibilidad de alimento y tener influencia en las tasas de crecimiento larvario.

No obstante, aunque a través de los resultados podemos relacionar el patrón alimenticio con el crecimiento, estos resultados no nos permiten inferir de manera directa como el comportamiento trófico influye en el potencial de crecimiento. De ahí que se llevaran a cabo comparaciones para los valores de isótopos estables entre grupos de la misma población con crecimientos muy contrastados para establecer relaciones directas entre el comportamiento trófico y los patrones de crecimiento.

La comparación entre los grupos de larvas de crecimiento óptimo y deficiente a dentro de la misma cohorte demuestra como las larvas con mejores crecimientos presentan mayores valores de  $\delta^{15}\text{N}$  y, en consecuencia, mayores niveles tróficos indican un comportamiento trófico más especialista en regiones de baja productividad. En cambio, al comparar los grupos de crecimiento en el área de con mayor disponibilidad de nutrientes no se

observan diferencias en el comportamiento trófico. Por tanto, las ventajas en el crecimiento asociadas a un comportamiento trófico más selectivo se ven condicionadas por la disponibilidad de alimento del ecosistema. Además, las comparaciones entre los grupos de ambas áreas muestran como el origen de la fuente de carbono tiene una influencia determinante en las tasas de crecimiento.

### **6.6.- Modelos de estimación de edad**

El estudio de la edad en las larvas de peces resulta imprescindible para el cálculo de las tasas de crecimiento y mortalidad, lo que la sitúa como una de las variables biológicas más influyentes (Campana 2001).

La determinación más fiable de la edad de las larvas de peces se lleva a cabo a través análisis de la microestructura de sus otolitos (Campana & Neilson 1985, Secor et al. 1995, Campana 1999) lo que implica la inversión de mucho tiempo en un meticuloso proceso de extracción y montaje. Además, la interpretación de los incrementos diarios requiere la participación de personal experto y cualificado para obtener resultados fiables (Megalofonou 2006). Como resultado, los estudios de crecimiento en larvas de peces representan un proceso con un alto ratio de costes/beneficios por otolito (Bedford 1983, Cardinale & Arrhenius 2004, Francis & Campana 2004) tanto en tiempo invertido como en capital humano.

Una de las mayores fuentes de error en estos análisis reside en la subjetividad del criterio del lector, lo que unido tanto a la variabilidad en la preparación de las muestras como a las discrepancias en los criterios de interpretación de las estructuras periódicas representan las mayores fuentes de

desacuerdo entre las estimas de distintos lectores (Boehlert 1985, Campana & Moksness 1991).

Desde los años 70, se han intentado desarrollar métodos semiautomáticos para determinación de edad basados en los otolitos (Manson 1974) con el doble objetivo de reducir tanto los altos costes en tiempo y capital humano como el factor subjetivo en las interpretaciones edad (Francis & Campana 2004). Varios autores han propuesto diversos modelos para la estima de edades (Pawson 1990, Stuart & Ord 1991, Worthington et al. 1995, Fletcher 1995), sin embargo, en la mayoría de estas aplicaciones los porcentajes de asignación correctos que son capaces de obtener son muy bajos. (Francis & Campana 2004).

De ahí que la aplicación de técnicas alternativas como los análisis discriminantes que nos permitan reducir la influencia de estas fuentes de error resultaría muy útil en los análisis de crecimiento larvario.

El objetivo de la aplicación de estas técnicas es, por consiguiente, construir un modelo predictivo que nos permita estimar la edad con altos porcentajes de acierto y bajos valores en los estimadores de dispersión (APE y CV) entre las lecturas estimadas y las obtenidas por lecturas directas en base a las variables somáticas y biométricas de los otolitos de las larvas con una notable reducción tanto de del factor subjetivo como del cociente costes/beneficios.

En base nuestros resultados, la creación y aplicación de un modelo predictivo basado en el análisis de funciones discriminantes a partir de las variables biométricas de sus otolitos permite la estimación de la edad de larvas

de anchoa con altos porcentajes de asignaciones correctas dentro de unos rangos de error asumibles ( $75\% \pm 1$  día de error,  $90\% \pm 2$  días de error) con muy bajos valores tanto del coeficiente de variación ( $CV < 5\%$ ) como del error porcentual promedio ( $APE < 3.5\%$ ) lo que indica la elevada precisión de las estimas predichas por el modelo y se sitúan por debajo de los valores citados por otros autores en este tipo de estudios (Campana 2001, Kimura & Lyons 1991)

Los resultados de nuestro modelo predictivo por el que las variables somáticas de las larvas (talla y peso) no se ven incluidas y que éste se base exclusivamente en las variables biométricas de los otolitos para obtener las estimas estarían en consonancia con otros estudios que sugieren que los que las medidas biométricas de los otolitos están más correlacionadas con la edad que las variables somáticas (Boehlert 1985) por lo que la inclusión de las variables morfométricas de los otolitos en los procesos de asignación de edad hacen las estimas más objetivas y precisas (Doering-Arjes et al. 2008).

A pesar de que las funciones discriminantes se calculan a partir de una base construida a partir de lecturas directas por lo que no puede considerarse un método objetivo (Francis & Campana 2004), sí que es cierto que nuestras estimas de edad están basadas exclusivamente en variables obtenidas a partir de medidas de los otolitos, lo que supone una importante reducción del factor subjetivo asociado a la interpretación de anillos de crecimiento que constituye una de las principales fuente de error en las estimas de edad (Boehlert & Yoklavich 1984, Kimura & Lyons 1991, Richards et al. 1992).

Al comparar las edades predichas por el modelo frente a las obtenidas por lecturas directas, no existen diferencias ni en el número de incrementos ni en los patrones de crecimiento somático de talla y peso de las larvas. Más aún, al comparar las diferencias entre las edades de los otolitos de la misma larva que deberían ofrecer la misma asignación de edad, los resultados predichos por el modelo mejoran los obtenidos por lectura directa. De estos resultados podemos concluir que las edades larvarias estimadas por el modelo predictivo son, en el peor de los casos, similares a las obtenidas por el análisis de la microestructura de sus otolitos.

Varios estudios advierten de la precaución al aplicar los resultados de las funciones obtenidas a partir de una población en otra distinta (Anderson et al. 1992, Worthington et al. 1995, Pilling et al. 2003). Sin embargo, nuestros resultados sugieren que es posible extrapolar el modelo calculado a partir de los datos de las larvas de una zona a otra población de la misma especie de otro área manteniendo los mismos resultados a pesar de que existan diferencias en el crecimiento entre dichas poblaciones bajo las premisas de que las larvas de ambas poblaciones incluidas en el análisis presenten una distribución de talla similar y no existan diferencias significativas de temperatura entre las áreas durante la fase de desarrollo de las mismas.

La calidad de las estimas obtenidas es independiente del número de muestras incluidas en el análisis por lo que a partir de un reducido número de otolitos es posible estimar la edad de un grupo considerablemente mayor lo que representa un importante ahorro tanto de recursos humanos como económicos en los estudios de crecimiento.

Por tanto, nuestro sistema basado en la selección de variables mejor correlacionadas con la edad para crear un modelo del que se calculan sus funciones discriminantes, es capaz de estimar edades exclusivamente a partir de las medidas biométricas de sus otolitos con notables porcentajes de asignación dentro de un rango de error asumible y con elevados niveles de precisión.

Además, los resultados de nuestro modelo son extrapolables a otras poblaciones (incluso con patrones de crecimiento significativamente distintos), a partir de un número reducido de larvas podemos estimar las edades de un grupo de mayor tamaño, se reduce parte del error provocado por el factor subjetivo error y las estimas calculadas son tan buenas o incluso mejores que por el conteo tradicional de anillos con un coste significativamente inferior.





## CAPÍTULO 7

### Conclusiones

---



La disponibilidad de alimento provocada por los procesos de fertilización propios de cada área supone un factor determinante para el crecimiento de las fases larvarias de las especies de pequeños pelágicos. Tanto para la anchoa como para la sardina que se desarrollan en áreas sin contraste de temperatura, las larvas que habitan en ecosistemas con una mayor producción primaria y una mayor disponibilidad de nutrientes, presentan mayores crecimientos que aquellas que se desarrollan en un ecosistema más oligotrófico.

Desde este punto de vista, y teniendo en cuenta las condiciones de los áreas de estudio durante las épocas de puesta consideradas en nuestro estudio, la zona noroccidental representaría un ecosistema más adecuado para el crecimiento de las larvas de sardina mientras el Mar de Alborán ofrecería las condiciones adecuadas para unas mayores tasas de crecimiento de las larvas de anchoa. Sin embargo, la alta variabilidad de los procesos tanto climáticos como oceanográficos responsables de los fenómenos de enriquecimiento en ambas zonas no permite la generalización de esta conclusión a mayor escala temporal.

La importancia de la calidad parental sobre los patrones de crecimiento larvario queda patente en las diferencias somáticas entre grupos de la misma cohorte capturadas en un único arrastre que, por tanto, se han desarrollado en unas mismas condiciones ambientales y entre las que no se han detectado diferencias en su comportamiento trófico.

El enriquecimiento de las larvas con respecto a sus presas potenciales a partir del estudio de isótopos estables sugiere que, al menos durante las fases

del desarrollo incluidas en este estudio, la fracción microzooplanctónica representa la principal fuente de alimento de las larvas en ambas especies.

La importancia de la influencia del comportamiento trófico sobre las tasas de crecimiento larvario viene condicionada por la disponibilidad de alimento. Larvas con las mayores tasas de crecimiento dentro de su cohorte capturadas en un área de baja productividad presentan un comportamiento trófico más especializado y, en consecuencia, una posición trófica superior. Por el contrario, esto no ocurre entre los grupos de larvas de la población asociada a una zona con alta disponibilidad de alimento por lo que, en este caso, su potencial de crecimiento no viene determinado por la especialización trófica.

La creación y aplicación de un modelo predictivo basado en el análisis de funciones discriminantes a partir exclusivamente de las variables biométricas de sus otolitos permite la estimación de la edad de larvas de anchoa con altos porcentajes de asignaciones correctas dentro de unos rangos de error asumibles y con valores muy bajos para los índices de dispersión indicativos de la elevada precisión de las estimas predichas por el modelo.

La aplicación de este modelo implica una notable disminución del componente subjetivo asociado a los procesos de interpretación de microestructuras para la asignación de edad a la vez que supone un importante ahorro de tiempo al reducir el número de lecturas y disminuir el cociente coste/beneficio por otolito en los estudios de crecimiento larvario

## CAPÍTULO 8

### Investigaciones futuras

---



Estudios de crecimiento, isótopos estables, variables ambientales y biometría de los otolitos desde una perspectiva conjunta con análisis genéticos que nos permitan mejorar la definición de la influencia de la herencia materna en el potencial de crecimiento larvario.

Estudios para relacionar el análisis de la microestructura de los otolitos con la expresión de determinados genes o la acumulación de determinadas proteínas para la obtención de un estimador indirecto del crecimiento con base genética.

Análisis de aminoácidos que permitan mejorar la definición de la dieta de las larvas a través de la trazabilidad de las presas ingeridas y asimiladas.

Mejora del sistema de asignación de edad automatizando la toma de la biometrías de los otolitos y/o encontrando funciones con mayor capacidad de discriminación que aumente el porcentaje de asignaciones correctas manteniendo valores bajos para APE y CV.

Aplicación del modelo predictivo a otras especies de alto interés comercial como la sardina (*Sardina pilchardus*), merluza (*Merluccius merluccius*), atún rojo (*Thunnus thynnus*) para poder utilizar bases de datos más completas con una menor inversión en medios tanto humanos como económicos y potenciar estudios interdisciplinarios.

Aplicación del modelo de funciones discriminantes para la estimación de edad en estadios más desarrollados (juveniles y/o adultos) con mayor importancia en los modelos de gestión pesquera donde las características biométricas de los otolitos serán más contrastantes entre los grupos de edad

en comparación con las fases larvarias y, por tanto, otorgarían al modelo una mayor capacidad de discriminación.

Utilización de los criterios de lectura empleados para las fases larvarias en el análisis del crecimiento diario de juveniles y/o adultos con el objetivo de determinar el radio del otolito al primer año de edad y mejorar así la precisión de las estimaciones anuales.



## CAPÍTULO 9

### Bibliografía

---



Abad R, Miquel J, Iglesias M, Álvarez F (1998) Acoustic estimation of abundance and distribution of sardine in the NW Mediterranean. *Fish. Res.* 34: 239-245.

Abend AG, Smith T (1997) Differences in stable isotope ratios of carbon and nitrogen between long-finned pilot whales (*Globicephala melas*) and their primary prey in the Western North Atlantic. *ICES J. Mar. Sci.* 54: 500-503.

Agostini V (2000) Relationships between Small Pelagics and the Environment: Where Have We Been and Where Do We Go from Here? Scientific Advisory Committee GFCM. Working Group on Small Pelagics.

Agostini VN, Bakun A (2002) 'Ocean triads' in the Mediterranean Sea: physical mechanisms potentially structuring reproductive habitat suitability (with example application to European anchovy, *Engraulis encrasicolus*). *Fish Oceanogr* 11: 129-142

Ahlstrom EL, Moser HG (1976) Eggs and larvae of fishes and their role in systematic investigations and in fisheries. *Rev. Trav. Inst. Pech. Marit.* 40(3-4): 379-398.

Aleman F, Alvarez F (1994) Formation of initial daily increments in sagittal otoliths of reared and wild *Sardina pilchardus* yolk-sac larvae. *Mar. Biol.* 121: 35-39.

Aleman F, Álvarez I, García A, Cortés D, Ramírez T, Quintanilla J, Álvarez F, Rodríguez JM (2006) Postflexion larvae and juvenile daily growth patterns of the Alborán Sea sardine (*Sardina pilchardus* Walb.): influence of wind. *Sci. Mar.* 70 (2): 93-104.

Alheit J (1988) Reproductive biology of sprat (*Sprattus sprattus*): factors determining annual egg production. *ICES J. Mar. Sci.* 44: 162-168.

Aldanondo N, Cotano U, Etxebeste E, Irigoiena X, Álvarez P, Martínez de Murguía A, Herrero DL (2008) Validation of daily increments deposition in the otoliths of European anchovy larvae (*Engraulis encrasicolus* L.) reared under different temperature conditions. *Fish. Res.* 93(3): 257-264.

Allain G, Petitgas P, Grellier P, Lazure P (2003) The selection process from larval to juvenile stages of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Bay of Biscay investigated by lagrangian simulations and comparative otolith growth. *Fish. Oceanogr.* 12: 407-418.

Anderson JT (1988) A review of size dependent survival during prerecruit stages of fishes in relation to recruitment. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 8: 55–66.

Anderson JR, Morison AK, Ray DJ (1992) Age and growth of Murray cod, *Maccullochella peelii* (Perciformes, Percichthyidae), in the lower Murray–Darling Basin, Australia, from thin-sectioned otoliths. *Aust. J. Mar. Freshw. Res.* 43: 983–1013.

Anderson JT (1994) Feeding ecology and condition of larval and pelagic juvenile *Sebastes* spp. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 104: 211-226.

Arévalo L, García Lafuente J (1983) Corrientes de la costa de Málaga. Métodos y Resultados. *Inf. Téc. Inst. Esp. Oceanogr.* 13.

Arim M, Berazategui M, Barreneche JM, Ziegler L, Zarucki M, Abades SR (2011) Determinants of density-body size scaling within food webs and tools for their detection. *Adv. Ecol. Res.* 45: 1–39.

Arnau PA (2000) Aspectos de la variabilidad de mesoescala de la circulación marina en la plataforma continental catalana. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Cataluña. Barcelona, España.

Astraldi M, Gasparini GP (1992) The seasonal characteristics of the circulation in the North Mediterranean Basin and their relationship with the atmospheric–climatic conditions. *J. Geophys. Res.* 97: 9531–9540.

Bakun A (1996) Patterns in the ocean. Ocean processes and marine population dynamics. California Sea Grant College System/NOAA. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, México.

Bakun A (2006) Fronts and eddies as key structures in the habitat of marine fish larvae: opportunity, adaptive response and competitive advantage. *Sci. Mar.* 70: 105–122.

Bakun A, Agostini V (2001) Seasonal patterns of wind-driven upwelling/downwelling in the Mediterranean Sea. *Sci. Mar.* 65: 243–257

Bailey KM, Houde ED (1989) Predation on eggs and larvae of marine fishes and the recruitment problem. *Adv. Mar. Biol.* 25: 1–83.

Baumann H, Pepin P, Davidson FJM, Mowbray F, Schnack D, Dower JF (2003) Reconstruction of environmental histories to investigate patterns of larval radiated shanny (*Ulvaria subbifurcata*) growth and selective survival in a large bay of Newfoundland. *ICES J. Mar. Sci.* 60: 243–258.

Beaugrand G, Brander KM, Lindley JA, Souissi S, Reid PC (2003) Plankton effect on cod recruitment in the North Sea. *Nature* 426: 661–664.

Bedford BC (1983) A method for preparing sections of large numbers of otoliths embedded in black polyester resin. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* 41: 4–12.

Berkeley SA, Chapman C, Sogard SM (2004) Maternal age as determinant of larval growth and survival in a marine fish, *Sebastes Melanops*. *Ecology* 85(5): 1258–1264.

Beyer JE (1989) Recruitment stability and survival: simple size-specific theory with examples from the early life dynamics of marine fish. *Dana Rep.* 7: 45–147.

Blacker RW (1969) Chemical composition of the zones in Cod (*Gadus Morhua* L.) otoliths. *J. Cons. int. Explor. Mer* 33(1): 107–108.

Blaxter JHS (1963) The feeding of herring larvae and their ecology in relation to feeding. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest* 10: 79–88.

Blaxter JHS (1969a) Visual thresholds and spectral sensitivity of flatfish larvae. *J. Exp. Biol.* 51: 321–30.

Blaxter JHS (1969b) Experimental rearing of pilchard larvae, *Sardina pilchardus*. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 49: 557–575.

Blaxter JHS, Hempel G (1963) The influence of egg size on herring larvae. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer.* 28: 211–240.

Blaxter JHS, Hunter JR (1982) The biology of clupeoid fishes. Adv. Mar. Biol. 20:1-223.

Bode A, Álvarez-Ossorio MT, Carrera P, Lorenzo P (2004) Reconstruction of trophic pathways between plankton and the North Iberian sardine (*Sardine pilchardus*) using stable isotopes. Sci. Mar. 68(1): 165-178.

Bode A, Alvarez-Ossorio MT, Cunha ME, Garrido S, Peleteiro JB, Porteiro C, Valdés L, Varela M (2007) Stable nitrogen isotope studies of the pelagic food web on the Atlantic shelf of the Iberian Peninsula. Prog. Oceanogr. 74: 115–131.

Boehlert GW (1985) Using objective criteria and multiple regression models for age determination in fishes. Fish. Bull. US 83: 103–117.

Boehlert GW, Yoklavich MM (1984) Variability in age estimates in *Sebastes* as a function of methodology, different readers, and different laboratories. Calif. Fish Game 70: 210–224.

Borme D, Tirelli V, Brandt S, Fonda S, Arneri E (2009) Diet of *Engraulis encrasicolus* in the northern Adriatic Sea (Mediterranean): ontogenetic changes and feeding selectivity. Mar. Ecol. Prog. Ser. 392: 193-209.

Borme D, Tirelli V, Palomera I (2013) Feeding habits of European pilchard late larvae in a nursery area in the Adriatic Sea. J. Sea. Res. 78: 8–17.

Bosc E, Bricaud A, Antoine D (2004) Seasonal and interannual variability in algal biomass and primary production in the Mediterranean Sea, as derived from 4 years of SeaWiFS observations. Global Biogeochem. Cy. 18: GB1005.

Bryden HL, Candela J, Zinder TH (1994) Exchange through the Strait of Gibraltar. Prog. Oceanogr. 33(3): 201-248.

Buckley LJ (1984) RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. Mar. Biol. 80: 291-298.

Burt JM, Hinch SG, Patterson DA (2011) The importance of parentage in assessing temperature effects on fish early life history: a review of the experimental literature. Rev. Fish. Biol. Fish. 21 (3): 377–406.

Caldeira C, Santos AMP, Ré P, Peck MA, Saiz E, Garrido S (2014) Effects of prey concentration on ingestion rates of European sardine *Sardina pilchardus* larvae in the laboratory. Mar. Ecol. Prog. Ser. 517: 217–228.

Campana SE (1996) Year-class strength and growth rate in young Atlantic cod *Gadus morhua*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 135: 21–26.

Campana SE (1999) Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. Mar. Ecol. Prog. Ser. 188: 263–297.

Campana SE (2001) Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods. J. Fish Biol. 59: 197–242.

Campana SE (2005) Otolith science entering in the 21st century. Mar. Freshwater Res. 56: 485-495.

Campana SE, Neilson JD (1985) Microstructure of fish otoliths. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 42: 1014–1032.

Campana SE, Moksness E (1991) Accuracy and precision of age and hatch date estimates from otolith microstructure examination. ICES J. Mar. Sci. 48: 303–316.

Campana SE, Jones CM (1992). Analysis of otolith microstructure data. En: Stevenson DK, Campana SE (eds.) Otolith microstructure examination and analysis. Can. Spec. Public. Fish. Aquat. Sci. 117: 73-100.

Campana SE, Jones CM (1998) Radiocarbon from nuclear testing applied to age validation of black drum, *Pogonias cromis*. Fish Bull 96: 185-192.

Campana SE, Thorrold SR (2001) Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations? Can. J. Fish. Aquat. Sci. 58: 30–38.

Cano N, García Lafuente J (1991) Corrientes en el litoral malagueño. Baja frecuencia. Bol. Inst. Esp. Oceanogr. 7: 59-77.

Cardinale M, Arrhenius F (2004) Application of the otolith weight–age relationship to estimate the age-structure of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). J. Appl. Ichthyol. 20: 470–475.

Carlström D (1963) A crystallographic study of vertebrate otoliths. Biol. Bull. 25: 441-463.

Castellón A, Font J, García E (1990) The Liguro-Provençal-Catalán current (NW Mediterranean) observed by Doppler profiling in the Balearic Sea. Sci. Mar. 54(3): 269-276.

Catalán IA, Olivar MP, Palomera I, Berdalet E (2006) Link between environmental anomalies, growth and condition of pilchard *Sardina pilchardus* larvae in the northwestern Mediterranean. Mar. Ecol. Prog. Ser. 307: 219-231.

Catalán IA, Folkvord A, Palomera I, Quílez-Badía G, Kallianoti F, Tselepides A, Kallianotis A (2010) Growth and feeding patterns of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) early life stages in the Aegean Sea (NE Mediterranean). Est. Coast. Shelf Sci. 86: 299-312.

Cermeño P, Morales-Nin B, Uriarte A (2006) Juvenile european anchovy otolith microstructure. Sci. Mar. 70: 553-557.

Chavez FP, Ryan J, Lluch-Cota SE, Ñiquen CM (2003) From anchovies to sardines and back: multidecadal change in the Pacific Ocean. Science 299: 217–221.

Chambers RC, Leggett WC (1987) Size and age at metamorphosis in marine fishes: an analysis of laboratory-reared winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) with a review of variation in other species. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44: 1936–1947.

Chambers RC, Waiwood KG (1996) Maternal and seasonal differences in egg sizes and spawning characteristics of captive Atlantic cod (*Gadus morhua*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53: 1986–2003.

Cheney RE, Doblar RA (1982) Structure and variability of the Alborán Sea frontal system. J. Geophys Res. 84 (C1): 585-594.



Checkley DM (1982) Selective feeding by Atlantic herring (*Clupea harengus*) larvae on zooplankton in natural assemblages. Mar. Ecol. Prog. Ser. 9: 245–253.

Checkley DM (1984) Relation of growth to ingestion for larvae of Atlantic herring *Clupea harengus* and other fish. Mar. Ecol. Prog. Ser. 18: 215–224.

Chícharo MA, Chícharo L, López-Jamar E, Valdes L, Ré P (1998a) Estimation of starvation and diel variation of the RNA/DNA ratios of field caught *Sardina pilchardus* larvae off north of Spain. Mar. Ecol. Prog. Ser. 164: 273–283.

Chícharo MA, Chícharo L, Valdes L, López-Jamar E, Re P (1998b) Does the nutritional condition limit survival potential of sardine *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) larvae off the north coast of Spain? RNA/DNA ratios and their variability. Fish. Res. 39: 43–54.

Chicharo MA, Esteves E, Santos AMP, dos Santos A, Peliz A, Ré P (2003) Are sardine larvae caught off northern Portugal in winter starving? An approach examining nutritional condition. Mar. Ecol. Prog. Ser. 257: 303–309.

Chícharo MA, Chícharo L (2008) RNA: DNA ratio and other nucleic acid derived indices in marine ecology. Int. J. Mol. Sci. 9: 1453–1471.

Chick JH, Van Den Avyle MJ (2000) Effects of feeding ration on larval swimming speed and responsiveness to predator attacks: implications for cohort survival. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 57: 106–115.

Cingolani N, Giannetti G, Arneri E (1996) Anchovy fisheries in the Adriatic Sea. En: Palomera I, Pérez-Rubin P (eds.) The european anchovy and its environment. Sci. Mar. 60(2): 269–277.

Clemmesen C, Doan T (1996) Does otolith structure reflect the nutritional condition of a fish larva? Comparison of otolith structure and biochemical index (RNA/DNA ratio) determined on cod larvae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 138: 33–39.

Clemmesen C, Sanchez R, Wongtshowski C (1997) A regional comparison of the nutritional condition of SW Atlantic anchovy larvae, *Engraulis anchoita*, based on RNA/DNA ratios. Arch. Fish. Mar. Res. 45(1): 17–43.

Coll M, Palomera I, Tudela S, Sarda F (2006) Trophic flows, ecosystem structure and fishing impacts in the South Catalan Sea, northwestern Mediterranean. *J. Mar. Syst.* 59: 63-96.

Coll M, Palomera I, Tudela S, Dowd M (2008) Food-web dynamics in the South Catalan Sea ecosystem (NW Mediterranean) for 1978-2003. *Ecol. Model.* 217: 95-116.

Conway DVP, Tranter PRG, Puelles MLF, Coombs SH (1991) Feeding of larval sprat (*Sprattus sprattus* L.) and sardine (*Sardina pilchardus* Walbaum). ICES C.M. Biol. Oceanogr. Committee 76.

Conway DVP, Coombs SH, Fernandez de Puelles ML, Tranter PRG (1994) Feeding of larval sardine, *Sardina pilchardus* (Walbaum), off the north coast of Spain. *Bol. Inst. Esp. de Oceanogr.* 10(2): 165-175.

Conway DVP, Coombs SH, Smith C (1998) Feeding of anchovy *Engraulis encrasicolus* larvae in the northwestern Adriatic Sea in response to changing hydrobiological conditions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 175: 35–49.

Coombs SH, Giovanardi O, Conway D, Manzueto L, Halliday N, Barrett C. (1997) The distribution of eggs and larvae of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in relation to hydrography and food availability in the outflow of the river Po. *Acta Adria.* 38:33–47.

Coombs SH, Conway DVP, Morley SA, Halliday NC (1999) Carbon content and nutritional condition of sardine larvae (*Sardina pilchardus*) off the Atlantic coast of Spain. *Mar. Biol.* 134: 367-373.

Coombs, S.H., Giovanardi, O., Halliday, N.C., Franceschini, G., Conway, D.V.P., Manzueto, L., Barrett, C.D. and McFadzen, I.R.B. (2003) Wind mixing, food availability and mortality of anchovy larvae *Engraulis encrasicolus* in the northern Adriatic Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 248:221– 235.

Cortés DR, Gil J, García A (1985) General distribution of chlorophyll, temperature and salinity in the north-western sector of Alborán Sea. Communication from the XXIX Congres-Assemblée pleniére CIESM. Lucerne, Switzerland.

Cortés, D. (2006) Estudio de la variabilidad del estado nutricional medido mediante indicadores bioquímicos de las larvas de sardina (*Sardina pilchardus*) del Mar de Alborán. Tesis doctoral. Universidad de Vigo. Vigo, España.

Costalago D, Palomera I, Alvarez-Calleja I (2010) Comparación de la dieta de juveniles de anchoa *Engraulis encrasicolus* y sardina *Sardina pilchardus* del Golfo de León en distintas épocas del año. XVI Simposio Ibérico de Estudios en Biología Marina. Alicante, España.

Costalago D, Tecchio S, Palomera I, Álvarez-Calleja I, Ospina-Álvarez A, Raicevich S (2011) Ecological understanding for fishery management: Condition and growth of anchovy late larvae during different seasons in the Northwestern Mediterranean. Est. Coast. Shelf Sci. 93 (4): 350-358.

Costalago D, Navarro, J, Álvarez-Calleja I, Palomera I (2012) Ontogenic and seasonal changes in feeding habits and trophic levels of two small pelagic fish species. Mar. Ecol. Prog. Ser. 460: 169-181.

Costalago D, Palomera I, Tirelli V (2014) Seasonal comparison of the diets of juvenile European anchovy *Engraulis encrasicolus* and sardine *Sardina pilchardus* in the Gulf of Lions. J. Sea. Res. 89: 64-72.

Coste B, Le Corre P, Minas HJ, Morin P (1988) Nutrients in the western basin of the Mediterranean Sea with reference to the Strait of Gibraltar and the Alborán Sea. En: Minas HJ, Nival P (eds) Oceanographie Pelagique Mediterranee. Oceanologia Acta. Villefranche sur Mer, France.

Cowen RK, Sponaugle S (2009) Larval dispersal and marine population connectivity. Ann. Rev. Mar. Sci. 1: 443–466.

Crean AJ, Marshall DJ (2009) Coping with environmental uncertainty: dynamic bet hedging as a maternal effect. Philos. T. Roy. Soc. B 364: 1087–1096.

Cury P, Bakun A, Crawford RJM, Jarre-Teichmann A, Quinones R, Shannon LJ, Verheye HM (2000) Small pelagics in upwelling systems: patterns of interaction and structural changes in 'wasp-waist' ecosystems. ICES J. Mar. Sci. 57: 603–618.

Cushing DH (1972) The production cycle and the numbers of marine fish. Symp. Zool. Soc. London 29: 213–232.

Cushing DH (1974) The possible density-dependence of larval mortality and adult mortality in fishes. En: Blaxter JHS (ed.) The early life history of fish. Springer-Verlag. Berlin, Germany.

Cushing DH (1975) Marine Ecology and Fisheries. Cambridge University Press. Cambridge, UK.

Cushing DH (1990) Plankton production and year-class strength in fish populations: an update of the match/mismatch hypothesis. Adv. Mar. Biol. 26: 249–293.

Cushing DH, Horwood JW (1994) The growth and death of fish larvae. J. Plankton Res. 16: 291–300.

Cushing D (1995) Population production and regulation in the sea: a fisheries perspective. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Cushing DH (1996) Towards a science of recruitment in fish populations. En O. Kinne O [ed.] Excellence in ecology 7. Ecology Institute. Oldendorf/Luhe, Germany.

Daskalov G (2002) Overfishing drives a trophic cascade in the Black Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 225: 53–63.

Degens ET, Deuser WG, Haedrich RL (1969) Molecular structure and composition of fish otoliths. Mar. Biol. 2: 105–113.

DeNiro MJ, Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. Geochim. Cosmochim. Ac. 42: 495–506.

Dickey CL, Isely JJ (1997) Slow growth did not decouple the otolith-fish size relationship in striped bass. Trans. Am. Fish. Soc. 126: 1027–1029.

Doering-Arjes P, Cardinale M, Moseggard H (2008) Estimating population age structure using otolith morphometrics: a test with known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) individuals. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 65: 2342–2350.

Dunkelberger DG, Dean JM, Watabe N (1980) The ultrastructure of the otolithic membrane and the otolith in juvenile mummichog, *Fundulus heteroclitus*. J. Morphol. 163: 367–377.

Durant JM, Hjermann DO, Ottersen G, Stenseth NC (2007) Climate and the match or mismatch between predator requirements and resource availability. Clim. Res. 33(2): 271–283.

Engelhard GH, Peck MA, Rindorf A, Smout SC, van Deurs M, Raab K, Andersen KH, Garthe S, Lauerburg RAM, Scott F, Brunel T, Aarts G, van Kooten T, Dickey-Collas M (2014) Forage fish, their fisheries, and their predators: who drives whom? ICES J. Mar. Sci. 71: 90–104.

Estrada M, Vives F, Alcaraz M (1985) Life and the productivity of the open sea. En: Margalef R (ed.) Key Environments: Western Mediterranean. Pergamon Press. London, UK.

Estrada M (1996) Primary production in the Northwestern Mediterranean. Sci. Mar. 60(2): 55-64.

FAO (Food and Agriculture Organization) (2006) SAC geographical subareas. [ftp://ftp.fao.org/FI/ DOCUMENT/gfcm/ sac/SAC\\_Geographical\\_SubAreas.pdf](ftp://ftp.fao.org/FI/DOCUMENT/gfcm/sac/SAC_Geographical_SubAreas.pdf)

Fernández IM, González-Quirós R (2006) Analysis of feeding of *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) larval stages in the central Cantabrian Sea. Sci. Mar. 70(1): 131–139.

Ferron A, Leggett WC (1994) An appraisal of condition measures for marine fish larvae. Adv. Mar. Biol. 30:217–303.

Fey DP (2001) Differences in temperature conditions and somatic growth rate of larval and early juvenile spring spawned herring from the Vistula Lagoon, Baltic Sea manifested in the otolith to fish size relationship. J. Fish. Biol. 58: 1257–1273.

Fey DP (2006) The effect of temperature and somatic growth on otolith growth: the discrepancy between two clupeid species from a similar environment. J. Fish. Biol. 69: 794–806.

Figueredo GM, de Nash RDM, Montagne DJS (2005) The role of generally unrecognized microprey source as food for larval fish in the Irish Sea. *Mar. Biol.* 148: 395–404.

Fitzhugh GR, Nixon SW, Ahrenholz DW, Rice JA (1997) Temperature effects on otolith microstructure and birth month estimation from otolith increment patterns in Atlantic menhaden. *T. Am. Fish. Soc.* 126: 579–593.

Fletcher WJ (1995) Application of the otolith weight–age relationship for the pilchard, *Sardinops sagax neopilchardus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 657–664.

Focken U, Becker K (1998) Metabolic fractionation of stable carbon isotopes: implications of different proximate compositions for studies of the aquatic food webs using delta C-13 data. *Oecologia* 115: 337–343.

Folkvord A, Hunter JR (1986) Size-specific vulnerability of northern anchovy, *Engraulis mordax*, larvae to predation by fishes. *Fish. Bull.* 84: 859–869.

Folkvord A, Rukan K, Johannessen A, Moskness E (1997) Early life history of herring larvae in contrasting feeding environments determined by otolith microstructure analysis. *J. Fish. Biol.* 51: 250–263.

Folkvord A, Bloma G, Johannessen A, Moksness E (2000) Growth-dependent age estimation in herring (*Clupea harengus* L.) larvae. *Fish. Res.* 46: 91–103.

Folkvord A, Johannessen A, Moksness E (2004) Temperature-dependent otolith growth in Norwegian spring-spawning herring (*Clupea harengus* L.) larvae. *Sarsia* 89: 297–310.

Font J, Salat J, Tintoré J (1988) Permanent features of the circulation in the Catalán Sea. En: Minas HJ, Nival P (eds) *Pelagic Mediterranean Oceanography*. *Oceanol. Acta* 9: 51–57.

Font J, Salat J, Juliá J (1990) Marine circulation along the Ebro continental margin. *Mar. Ecol.* 95(3-4): 165–177.

Fortier L, Ponton D, Gilbert M (1995) The match-mismatch hypothesis and the feeding success of fish larvae in ice-covered southeastern Hudson Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 120: 11–27.

Fortier L, Villeneuve A (1996) Cannibalism and predation on fish larvae by larvae of Atlantic mackerel, *Scomber scombrus*: trophodynamics and potential impact on recruitment. Fish. Bull. 94: 268–281.

France RL, Peters RH (1997) Ecosystem differences in the trophic enrichment of  $^{13}\text{C}$  in aquatic food webs. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 54: 1255–1258.

Francis R, Campana SE (2004) Inferring age from otolith measurements: a review and a new approach. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 61: 1269–1284.

Fredriksen S (2003) Food web studies in a Norwegian kelp forest based on stable isotope ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) analysis. Mar. Ecol. Prog. Ser. 260: 71–81

Fuiman LA, Cowan Jr. JH (2003) Behavior and recruitment success in fish larvae: repeatability and covariation of survival skills. Ecology 84: 53–67.

Gaines SD, Gaylord B, Gerber LR, Hastings A, Kinlan BP (2007) Connecting places. The ecological consequences of dispersal in the sea. Oceanography 20: 90–99.

García A, Palomera I (1996) Anchovy early life history and its relation to its surrounding environment in the Western Mediterranean basin. Sci. Mar. 60(S2): 155–166.

García A, Cortés D, Ramírez T, Giradlez A, Carpena A (2003) Contribution of larval growth rate variability to the recruitment of the Bay of Málaga anchovy (SW Mediterranean) during 2000–2001 spawning seasons. Sci. Mar. 67(4): 447–490.

García A, Cortés D, Quintanilla J, Rodríguez JM (2007) Evidencing growth-dependent survival of Alboran Sea sardine (*Sardina pilchardus*) larvae in the field. Rapp. Comm. int. Mer Medit. 38.

García A, Cortés D, Quintanilla J, Ramírez T, Quintanilla L, Rodríguez JM, Alemany F (2013) Climate-induced environmental conditions influencing interannual variability of Mediterranean bluefin (*Thunnus thynnus*) larval growth. Fish. Oceanogr. 22(4): 273–287.

García-Górriz E, Carr ME (2001) Physical control of phytoplankton distributions in the Alboran Sea: A numerical and satellite approach. *J. Geophys. Res.* 106: 16795-16805.

García Lafuente J, Delgado J, Vargas M, Plaza F, Sarhan T (2002). Low-frequency variability of the exchanged flows through the Strait of Gibraltar during CANIGO. *Deep-Sea Res. II* 49: 4051-4067.

García-Tiscar S (2009) Interacciones entre delfines mulares (*Tursiops truncatus*), orcas (*Orcinus orca*) y pesquerías en el mar de Alborán y estrecho de Gibraltar. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. Madrid, España.

Garrido S, Rosa R, Ben-Hamadoub R, Cunha ME, Chícharo MA, van der Lingen CD (2007) Effect of maternal fat reserves on the fatty acid composition of sardine (*Sardina pilchardus*) oocytes. *Comp. Biochem. Phys. B* 148: 398–409.

Garrido S, van der Lingen CD (2014) Feeding biology and ecology. En: Ganas K (ed.) *Biology and ecology of sardines and anchovies*. CRC Press/Taylor & Francis group. Science Publishers: 122-189.

Gerard TL, Malca E (2011) Silver nitrate staining improves visual analysis of daily otolith increments. *J. Am. Sci.* 7(1): 120-124.

Giannoulaki M, Iglesias M, Tugores MP, Bonnano A, Patti B, De Felice A, Leonori I, Bigot JL, Ticina V, Pyrounaki MM, Tsagarakis K, Machias A, Somarakis S, Schismenou E, Quinci E, Basilone G, Cuttitta A, Campanella F, Miquel J, Oñate D, Roos D, Valavanis V (2013) Characterizing the potential habitat of European anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Mediterranean Sea at different life stages. *Fish Oceanogr* 22: 69–89.

Giráldez A, Abad R (1995) Aspects on the reproductive biology of the Western Mediterranean anchovy from the coasts of Málaga (Alborán Sea). *Sci. Mar.* 59: 15-23.

Gomez F, González N, Echevarria F, García CM (2000) Distribution and fluxes of dissolved nutrients in the Strait of Gibraltar and its relationships to microphytoplankton biomass. *Estuar. Coast Shelf Sci.* 51(4): 439-449.



Gómez-Larrañeta M (1960) Synopsis of biological data on *Sardina pilchardus* of the Mediterranean and adjacent seas. FAO Fish. Biol. Synop. 9: 137-173.

González E, Zardoya R (2007) Relative role of life-history traits and historical factors in shaping genetic population structure of sardines (*Sardina pilchardus*) BMC Evol. Biol. 2007: 7: 197.

Govoni JJ (2005) Fisheries oceanography and the ecology of early life histories of fishes: a perspective over fifty years. Sci. Mar. 69(1): 125-137.

Grassé PP (1958) L'oreille et ses annexes. In: P. P. Grassé (ed.) Traité de Zoologie vol. XIII. Masson and Cie. Paris, France.

Guisande C, Riveiro I, Sola A, Valdes L (1998) Effect of biotic and abiotic factors on the biochemical composition of wild eggs and larvae of several fish species. Mar. Ecol. Prog. Ser. 163: 53–61.

Gurney LJ, Froneman PW, Pakhomov EA, McQuaid CD (2001) Trophic positions of the three euphausiid species from the Prince Edward Islands (Southern Ocean): implications for the pelagic food structure. Mar. Ecol. Prog. Ser. 217: 167-174.

Gutiérrez E, Morales-Nin B (1986) Time series analysis of daily growth in *Dicentrarchus labrax* L. otoliths. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 103(1–3): 163–179.

Harder W (1975) Anatomy of fishes. Schweigerbart science publishers. Stuttgart, Germany.

Hare JA, Cowen RK (1997) Size, growth, development, and survival of the planktonic larvae of *Pomatomus saltatrix* (Pisces: Pomatomidae). Ecology 78: 2415–2431.

Healey MC (1982) Timing and relative intensity of size-selective mortality of juvenile chum salmon (*Oncorhynchus keta*) during early sea life. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 39: 952–957.

Heath MR (1992) Field investigations of the early life stages of marine fish larvae. Adv. Mar. Biol. 28: 1–174.

Henderson MA, Cass AJ (1991) Effect of smolt size on smolt-to-adult survival for Chilko Lake sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 48: 988–994.

Hjort J (1914) Fluctuations in the great fisheries of northern Europe viewed in the light of biological research. Rapp P-V Reun. Cons. Int. Explor. Mer 20: 1–228.

Hjort J (1926) Fluctuations in the year classes of important food fishes. J. Cons. Int. Explor. Mer 1: 5–38.

Hobson KA, Welch HE (1992) Determination of trophic relationships within a high arctic marine food web using  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analysis. Mar. Ecol. Prog. Ser. 84: 9-18.

Hobson KA, Schell DM, Renouf D, Noseworthy E (1996) Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals. implications for dietary reconstructuins involving marine mammals. Can. J. Fis. Aqu. Sci. 53: 528-533.

Hobson KA, Fisk A, Karnovsky N, Holst M, Gagnon JM, Fortier M (2002) A stable isotope ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) model for the North Water food web: implications for evaluating trophodynamics and the flow of energy and contaminants. Deep-Sea Res II 49: 5131–5150.

Houde ED (1987) Fish early life dynamics and recruitment variability. Am. Fish. Soc. Symp. 2 : 17–29.

Houde ED (1989a) Comparative growth, mortality, and energetics of marine fish larvae: temperature and implied latitudinal effects. Fish. Bull. 87: 471-495.

Houde ED (1989b) Subtleties and episodes in the early life of fishes. J. Fish. Biol. 35 (Suppl A): 29–38.

Houde ED (2008) Emerging from Hjort's shadow. J. Northw. Atl. Fish. Sci. 41: 53–70.

Houde E, Hoyt R (1987) Fish early life dynamics and recruitment variability. En: Hoyt RD (ed.) 10th Annual Larval Fish Conference. Am. Fish. Soc. Symp 2. Bethesda, USA.

Hovenkamp F (1992) Growth-dependent mortality of larval plaice *Pleuronectes platessa* in the North Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 82: 95-101.

Hovenkamp F, Witte JIJ (1991) Growth, otolith growth and RNA/DNA ratios of larval plaice *Pleuronectes platessa* in the North Sea 1987 to 1989. Mar. Ecol. Prog. Ser. 70: 105-116.

Høie H, Folkvord A, Johannessen A (1999) The influence of different parental combinations and incubation temperature on the RNA and DNA content of herring larvae at hatching: a pilot study. J. Fish Biol. 55(A): 110-118.

Hunter JR (1972) Swimming and feeding behaviour of larval anchovy *Engraulis mordax*. Fish. Bull. 70: 821–838.

Hunter JR (1981) Feeding, ecology and predation of marine fish larvae. En: Lasker R (ed) Marine fish larvae: morphology, ecology and relation to fisheries. Washington Sea Grant Program. University of Washington Press. Seattle, USA.

Hunter JR (1984) Inferences regarding predation on the early life stages of cod and other fishes. Flødevigen Rapp. 1: 533-562.

Hunter JR, Alheit J (1995) International GLOBEC Small Pelagic Fish and Climate Change program. GLOBEC report 8.

ICES (2014) Report of the Workshop on the identification of clupeoid larvae (WKIDCLUP). Hamburg, Germany. ICES CM 2014/SSGESST:04.

ICES (2014) Workshop on micro increment daily growth in European Anchovy and Sardine (WKMIAS). Mazara del Vallo, Sicily. ICES CM 2013/ACOM:51.

Jobling M (2002) Environmental factors and rates of development and growth. En: Hart PJB, Reynolds JD (eds) Handbook of Fish Biology and Fisheries (Vol 1) Blackwell Publishing. Oxford, UK.

Jones C (1986). Determining age of larval fish with the otolith increment technique. Fish. Bull. US 84: 91-103.

Kaehler S, Pakhomov EA, McQuaid CD (2000) Trophic structure of the marine food web at the Prince Edward Islands (Southern Ocean) determined by  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  analysis. Mar. Ecol. Prog. Ser. 208: 13–20.

Karakiri M, Westernhagen H (1989) Daily growth patterns in otoliths of larval and juvenile plaice (*Pleuronectes platessa* L.): Influence of temperature, salinity, and light conditions. En: The early life history of fish. The Third ICES Symposium. Bergen, Norway. Rapp. P.-V. Reun. CIEM. (191): 376-382.

Kawasaki T (1991) Long term variability in the pelagic fish populations. En: Kawasaki T, Tanaka S, Toba Y, Taniguchi A (eds.). Long-term variability of pelagic fish populations and their environment. Pergamon Press. Oxford, UK.

Kerrigan BA (1997) Variability in larval development of the tropical reef fish *Pomacentrus amboinensis* (Pomacentridae): the parental legacy. Mar. Biol. 127: 395–402.

Kimura DK, Lyons JJ (1991) Between-reader bias and variability in the age-determination process. Fish. Bull. US 89: 53–60.

Kimura R, Watanabe Y, Zenitani H (2000) Nutritional condition of first-feeding larvae of Japanese sardine in the coastal waters along the Kuroshio Current. ICES J. Mar. Sci. 57: 240-248.

Kloppmann MHF, Hillgruber N, von Westernhagen H (2002) Wind-mixing effects on feeding success and condition of blue whiting larvae in the Porcupine Bank area. Mar. Ecol. Prog. Ser. 235: 263-277.

Lacombe H, Richez C (1982) The regime of the Strait of Gibraltar. En: Nihoul JCJ (ed)13 Int. Liege Colloquium on Ocean Hydrodynamics. Liege, Belgium.

Lagler K, Bardach JE, Miller RR, Passino DRM (1977) Ichthyology. John Wiley and Sons. New York, USA.

- La Mesa M, Donato F, Giannetti G, Arneri E (2009) Growth and mortality rates of European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) in the Adriatic sea during the transition from larval to juvenile stages. *Fish. Res.* 96: 275-280.
- Leggett WC, Deblois E (1994) Recruitment in marine fishes: is it regulated by starvation and predation in the egg and larval stages? *Neth. J. Sea Res.* 32: 119–134.
- Lleonart J, Maynou F (2003) Fish stock assessments in the Mediterranean: state of the art. *Sci. Mar.* 67(S1): 37-49.
- Lloret J, Palomera I, Salat J, Sole I (2004) Impact of the freshwater input and wind on landings of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and sardine (*Sardina pilchardus*) in the shelf waters surrounding the Ebre (Ebro) River delta (north-western Mediterranean). *Fish. Oceanogr.* 13(2): 102-110.
- Lluch-Belda D, Crawford RJM, Kawasaki T, MacCall AD, Parrish RH, Schwartzlose RA, Smith PE (1989) World-wide fluctuations of sardine and anchovy stocks: the regime problem. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 8: 195–205.
- Lorrain A., Paulet YM, Chauvaud L, Savoye N, Donval A, Saout C (2002) Differential  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  signatures among scallop tissues: implications for ecology and physiology. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 275: 47–61.
- Lough RG, Broughton E A (2007) Development of micro-scale frequency distributions of Plankton for inclusion in foraging models of larval fish, results from a Video Plankton Recorder. *J. Plankton Res.* 29: 7–17.
- Lowenstein O (1971) The Labyrinth. En: Hoar WS, Randall DJ (eds.) *Fish Physiology Vol. V.* Academic Press. New York, USA.
- Luecke C, Rice JA, Crowder LB, Yeo SF, Binkowski FP (1990) Recruitment mechanism of bloater in Lake Michigan: an analysis of predatory gauntlet. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 47: 524–532.
- Maillet GL, Checkley DM Jr (1990) Effects of starvation on the frequency of formation and width of growth increments in sagittae of laboratory-reared atlantic menhaden *Brevoortia tyrannus* larvae. *Fish. Bull.* 88: 155–165.

Margalef R (1968) Fluctuaciones de varios años de período medio en la producción de fitoplancton en el Mediterráneo occidental. Coll. Bot. VII 41 (II): 117–130.

Margalef R (1985) Introduction to the Mediterranean. En: R. Margalef (ed.) Key Environments: Western Mediterranean. Pergamon Press. London, UK.

Martín P, Sabatés A, Lloret J, Martin-Vide J (2012) Climate modulation of fish populations: the role of the Western Mediterranean Oscillation (WeMO) in sardine (*Sardina pilchardus*) and anchovy (*Engraulis encrasicolus*) production in the north-western Mediterranean. Clim. Change 110: 925–939.

Manson JE (1974) A semi-automatic machine for counting and measuring circuli on fish scales. En: Bagenal TB (ed.), The Ageing of Fish. Unwin Brothers Limited. Surrey, UK.

May RC (1974) Larval mortality in marine fishes and the critical period concept. En: Blaxter JHS (ed.) The early life history of fish. Springer-Verlag. New York, USA.

McClelland JW, Montoya JP (2002) Trophic relationships and the nitrogen isotopic composition of aminoacids in plankton. Ecology 83: 2173–2180.

McConnaughey T, McRoy CP (1979) Food-web structure and the fractionation of carbon isotopes in the Bering Sea. Mar. Biol. 53: 257–262.

McGurk MD (1986) Natural mortality of marine pelagic fish eggs and larvae: role of spatial patchiness. Mar. Ecol. Prog. Ser. 34: 227–242.

McMahon KW, Fogel ML, Elsdon TS, Thorrold SR. 2010. Carbon isotope fractionation of amino acids in fish muscle reflects biosynthesis and isotopic routing from dietary protein. J. Anim. Ecol. 79: 1132–41.

Meekan MG, Fortier L (1996) Selection for fast growth during the larval life of Atlantic cod *Gadus morhua* on the Scotian Shelf. Mar. Ecol. Prog. Ser. 137: 25–37.

Meekan MG, Carleton JH, Steinberg CR, McKinnon AD, Brinkman R, Doherty PJ, Halford A, Duggan S, Mason L (2006) Turbulent mixing and mesoscale distributions of late-stage fish larvae on the NW Shelf of Western Australia. *Fish. Oceanogr.* 15: 44–59.

Megalofonou P (2006) Comparison of otolith growth and morphology with somatic growth and age in young-of-the-year bluefin tuna. *J. Fish Biol.* 68: 1867–1878.

Menna M, Poulain PM (2010) Mediterranean intermediate circulation estimated from Argo data in 2003–2010. *Ocean Sci.* 6: 331–343.

Mercado J, Cortés D, Garcia A, Ramírez T (2007) Seasonal and inter-annual changes in the planktonic communities of the northwest Alboran Sea (Mediterranean Sea). *Prog. Oceanogr.* 74 (2–3): 273–293.

Mercado JM, Ramírez T, Cortés D, Liger E (2010) Isotopic composition of particulate organic nitrogen and its relationship to nitrate assimilation in the Mediterranean Sea. *Sci. Mar.* 74(4): 745–753.

Miller TJ, Crowder LB, Rice JA, Marschall EA (1988) Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1657–1670.

Millot C (1990) The Gulf of Lions hydrodynamics. *Cont. Shelf. Res.* 10(9-11): 885–894.

Miller TJ, Crowder LB, Rice JA, Marschall EA (1988) Larval size and recruitment mechanisms in fishes: toward a conceptual framework. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45: 1657–1670.

Minas HJ, Coste B, Le Corre P, Minas M, Raimbault P (1991). Biological and geochemical structures associated with the water circulation through the Strait of Gibraltar and in the Western Alboran Sea. *J. Geophys. Res.* 96 (C5): 8755–8771.

Montagnes DJS, Dower JF, Figueiredo GM (2010) The protozooplankton–ichthyoplankton trophic link: an overlooked aspect of aquatic food webs. *J. Euk. Microbiol.* 57: 223–228.

Morales-Nin B (1987) Ultrastructure of the organic and inorganic constituents of the otolith of the sea bass. En: Summerfelt RC, Hall GE (ed.) Age and growth of fish. Iowa State University Press. Ames, USA

Morales-Nin B, Torres GJ, Lombarte A, Recasens L (1998) Otolith growth and age estimation in the european hake. *J. Fish. Biol.* 53: 155-1168.

Morales-Nin B, Panfili J (2002) VIII. Preparation and observation techniques. Observation. En: Panfili J, Troadec H, de Pontual H, Wright PJ (eds.), Manual of Schlerochronology in Fishes. IFREMER-IRD. Brest, France.

Morel A, Andre JM (1991) Pigment distribution and primary production in the western Mediterranean as derived and modeled from coastal zone colour scanner observation. *J. Geoph. Res.* 96:12 685–12 698.

Morote E, Olivar MP, Villate F, Uriarte I (2010) A comparison of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and sardine (*Sardina pilchardus*) larvae feeding in the Northwest Mediterranean: influence of prey availability and ontogeny. *ICES J. Mar. Sci.* 67: 897-908.

Morrison DJ, Cooper K, Preston T. 2010. Reconstructing bulk isotope ratios from compound-specific isotope ratios. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 24: 1799–1804.

Mugiya Y (1987) Phase difference between calcification and organic matrix formation in diurnal growth of otoliths in the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fish. Bull.* 85: 395–401.

Munk P (1997) Prey size spectra and prey availability of larval and small juvenile cod. *J. Fish. Biol.* 51: 340–351.

Munuera, I. 2006. Ecología de la alimentación de las larvas de *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792), *Scomber scombrus* (Linné, 1798) y *Engraulis*



*encrasicolus* (Linné, 1798) en el mar Cantábrico. Tesis doctoral. Universidad de Oviedo. Oviedo, España.

Myers RA (2002) Recruitment: understanding density-dependence in fish populations. Handb. Fish Biol. Fish. 1: 123-148.

Navarro J, Louzao M, Arcos JM, Oro D, Delgado A, Arcos JM, Meritxell G, Hobson KA, Forero MG (2009) Seasonal changes in the diet of a critically endangered seabird and the importance of trawling discards. Mar. Biol. 156: 2571–2578.

Neilson JD, Geen GH (1985) Effects of feeding regimes and diel temperature cycles on otolith increment formation in juvenile chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. Fish. Bull. 83: 91–101.

Nunn AD, Tewson LH, Cowx IG (2012) The foraging ecology of larval and juvenile fishes. Rev. Fish Biol. Fish. 22: 377-408.

Olivar O, Salat J, Palomera I (2001) Comparative study of the spatial distribution patterns of the early stages of anchovy and pilchard in the NW Mediterranean Sea. Mar. Ecol. Prog. Ser. 217: 111-120.

Olivar P, Catalán IA, Emelianov M, Fernández de Puelles ML (2003) Early stages of *Sardina pilchardus* and environmental anomalies in the Northwestern Mediterranean. Estuar. Coast. Shelf Sci. 56: 609-619.

Olive PJW, Pinnegar JK, Welch R, Richards G, Polunin NVC (2003) Isotope trophic-step fractionation: a dynamic equilibrium. J. Anim. Ecol. 72: 608–617.

Oozeki Y, Watanabe Y, Kurita Y, Nakata K, Kitagawa D (2003) Growth rate variability of Pacific saury, *Cololabis saira*, larvae in the Kuroshio waters. Fish. Oceanogr. 12: 419–424.

Otterlei E, Folkvord A, Nyhammer G (2002) Temperature dependent otolith growth of larval and early juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*). ICES J. Mar. Sci. 59: 851–860.

Ovchinnikov, IM (1974) On the water balance of the Mediterranean Sea. Oceanology 14: 198-202.

Owen RW (1989) Microscale and fine-scale variations of small plankton in coastal and pelagic environments. *Journal of Marine Research* 47: 197–240.

Palomera I, Morales-Nin B, Lleonart J (1988) Larval growth of anchovy, *Engraulis encrasicolus*, in the Western Mediterranean Sea. *Mar. Biol.* 99: 283–291.

Palomera I (1989) Primeras fases del desarrollo de la anchoa en la costa Catalana. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Barcelona, España.

Palomera I (1992) Spawning of anchovy *Engraulis encrasicolus* in the North Western Mediterranean relative to hydrographic features in the region. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 7: 215–223.

Palomera I, Olivar P (1996) Nearshore ichthyoplankton off the Costa Brava (Northwest Mediterranean) *Bol. Inst. Esp. Oceanog.* 22: 71-76.

Palomera I, Olivar MP, Salat J, Sabatés A, Coll M, Garcia A, Morales-Nin B (2007) Small pelagic fish in the NW Mediterranean Sea: An ecological review. *Prog. Oceanogr.* 74 (2-3): 377-396.

Parrilla G, Kinder TH (1987) Oceanografía física del Mar de Alborán. *Bol. Inst. Esp. Oceanog.* 4: 133-166.

Pannella G (1971) Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns. *Science* 173: 1124-1127.

Paradis AR, Pepin P, Brown JA (1996) Vulnerability of fish eggs and larvae to predation: review of the influence of the relative size of prey and predator. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 53: 1226-1235.

Pavlov DA, Moksness E, Burmenski VA (2000) Otolith microstructure characteristics in White Sea spring-spawning herring (*Clupea pallasii marisalbi* Berg) larvae. *ICES J. Mar. Sci.* 57(4): 1069-1076.

Pawson MG (1990) Using otolith weight to age fish. *J. Fish Biol.* 36: 521–531.

Peck MA, Huebert KB, Llopiz JK (2012) Intrinsic and extrinsic factors driving match-mismatch dynamics during the early life history of marine fishes. *Adv. Ecol. Res.* 47: 177-302.

Peck M A, Hufnagl M (2012) Can IBMs tell us why most larvae die in the sea? Model sensitivities and scenarios reveal research needs. *J. Mar. Syst.* 93: 77–93.

Peck MA, Reglero P, Takahashi M, Catalan IA (2013) Life cycle ecophysiology of small pelagic fish and climate driven changes in populations. *Prog. Oceanogr.* 116: 220–245.

Pepin P (1989) Using growth histories to estimate larval fish mortality rates. *Rapp. P.-V. R  un. Cons. Int. Explor. Mer* 191: 324-329.

Pepin P (1991) Effect of temperature and size on development, mortality, and survival rates of the pelagic early life history stages of marine fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 48: 503-518.

Pepin P, Dower JF, Benoît HP (2001) The role of measurement error on the interpretation of otolith increment width in the study of growth in larval fish *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58: 2204–2212.

Pepin P, Dower JF (2007) Variability in the trophic position of larval fish in a coastal pelagic ecosystem based on stable isotope analysis. *J. Plankton Res.* 29(8): 727–737.

Pepin P, Robert D, Bouchard C, Dower JF, Falardeau M, Fortier L, Jenkins GP, Leclerc V, Levesque K, Llopiz JK, Meekan MG, Murphy HM, Ringuette M, Sirois P, Sponaugle S (2015) Once upon a larva: revisiting the relationship between feeding success and growth in fish larvae. *ICES J. Mar. Sci.* 72(2): 359-373.

Peterson I, Wroblewski JS (1984) Mortality rate of fishes in the pelagic ecosystem. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41: 1117–1120.

Peterson BJ, Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 18: 293–320.

Petitgas P, Alheit J, Peck MA, Raab K, Irigoien X, Huret M, van der Kooij J, Pohlmann T, wagner C, Zarraonaindia I, Dickey-Collas M (2012) Anchovy population expansion in the North Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 444: 1–13.

Pilling GM, Grandcourt EM, Kirkwood GP (2003) The utility of otolith weight as a predictor of age in the emperor *Lethrinus mahsena* and other tropical fish species. *Fish. Res.* 60: 493–506.

Pinnegar JK, Polunin NVC (2000) Contributions of stable-isotope data to elucidating food webs of Mediterranean rocky littoral fishes. *Oecologia* 122: 399-409.

Piñeiro CG (2011) Edad y crecimiento de la merluza europea del noroeste de la Península Ibérica: evolución de un paradigma. Tesis doctoral. Universidad de Vigo. Vigo, España.

Pitchford JW, Brindley J (2001) Prey patchiness, predator survival and fish recruitment. *Bull. Math. Biol.* 63: 527–546.

Plounevez S, Champalbert G 2000. Diet, feeding behaviour and trophic activity of the anchovy (*Engraulis encrasicolus* L.) in the Gulf of Lions (Mediterranean Sea). *Oceanol. Acta* 23(2): 175-192.

Polunin NV, Morales-Nin B, Pawsey WE, Cartes JE, Pinnegar JK, Moranta J (2001) Feeding relationships in Mediterranean bathyal assemblages elucidated by stable nitrogen and carbon isotope data. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 220: 13-23.

Polunin NV, Pinnegar J (2008) Trophic ecology and the structure of marine food webs. En: Hart PJ, Reynolds JD (eds) *Handbook of fish biology and fisheries*, Vol 1. Fish biology. Blackwell Publishing. Oxford, UK.

Pontual H, Panfili J, Wright PJ, Trédec H (2002) General introduction. En: Panfili J, Trédec H, de Pontual H, Wright PJ (eds.) *Manual of Schlerochronology in Fishes*. IFREMER-IRD. Brest, France.

Popp BN, Graham BS, Olson RJ, Hannides CCS, Lott MJ, et al. 2007. Insight into the trophic ecology of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, from compound-specific nitrogen isotope analysis of proteinaceous amino acids. En: *Terrestrial*

Ecology. Vol. 1: Dawson T, siegwolf R (eds.) Stable Isotopes as Indicators of Ecological Change. Elsevier/Academic. Amsterdam, Netherland.

Popper AN, Platt C (1993) Inner ear and lateral line. En: D. Evans (ed.), The Physiology of Fishes. CRC Press. Boca Raton, USA.

Post JR, Prankevicius AB (1987) Size-selective mortality in young-of-the-year yellow perch (*Perca flavescens*): evidence from otolith microstructure. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 44: 1840–1847.

Post DM (2002) Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. Ecology 83(3): 703-718.

Pryor VK, Epifano CE (1993) Prey selection by larval weakfish (*Cynoscion regalis*): the effects of prey size, speed and abundance. Mar. Biol. 116: 31–37.

Ramcharitar J, Deng X, Ketten D, Popper AN (2004) Form and function in the unique inner ear of a teleost: the silver perch. J. Comp. Neurol. 475: 531-539.

Ramírez T, Cortés D, García A (2001) Growth of North Alborán Sea sardine larvae estimated by otolith microstructure, nucleic acids and protein content. J. Fish Biol. 59: 403–415.

Ramírez T, Cortés D, García A, Carpena A (2004) Seasonal variations of RNA/DNA ratios and growth rates of the Alborán Sea sardine larvae (*Sardina pilchardus*). Fish. Res. 68: 57–65.

Ramón MM, Castro JA (1997) Genetic variation in natural stocks of *Sardina pilchardus* (sardines) from the western Mediteranean Sea. Heredity 78: 520–528

Rasoanarivo R, Folack J, Champalbert G, Becker B (1991) Relations entre les communautes phytoplanctoniques et l'alimentation des larves de *Sardina pilchardus* Walb. dans le golfe de Fos (Mediterranee occidentale): Influence de la lumiere sur l'activite alimentaire des larves. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 151(1): 83-92.

Ré P (1984) Evidence of daily and hourly growth in pilchard larvae based on otolith growth increments, *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1972). *Cybiurn* 8: 33-38.

Ré P (1986) Otolith microstructure and the detection of life history events in sardine and anchovy larvae. *Cienc. Biol. Ecol. Sist.* 6: 9–17.

Ré P, Meneses I (2009) Early stages of marine fishes occurring in the Iberian peninsula. IPIMAR/IMAR. Lisboa, Portugal.

Reibisch J (1899) Ueber di Einzahl bei *Pleuronectes plateassa* und die Altersbestimmung dieser Form aus den Otolithen. *Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* (Kiel) 4: 233-248.

Reichert MJM, Dean JM, Feller RJ, Grego JM (2000) Somatic growth and otolith growth in juveniles of a small subtropical flatfish, the fringed flounder, *Etropus crossotus*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 254: 169–188.

Regner S (1996) Effects of environmental changes on early stages and reproduction of anchovy in the Adriatic Sea. *Sci. Mar.* 60: 167–177.

Reviewed Native Distribution Map for *Engraulis encrasicolus* (modelled 2100 map based on IPCC A2 emissions scenario) (European anchovy). [www.aquamaps.org](http://www.aquamaps.org), version of Aug. 2013.

Reviewed Native Distribution Map for *Sardina pilchardus* (modelled 2100 map based on IPCC A2 emissions scenario) (European pilchard). [www.aquamaps.org](http://www.aquamaps.org), version of Aug. 2013.

Rice J (1995) Food web theory, amrine food webs, and what climate change may do to northern marine fish populations. En: Beamish RJ (ed.) *Climate change and northern fish populations*. *Can. Spec. Pub. Fish. Aquat. Sci.* 121: 561-568.

Rice JA, Crowder LB, Holey ME (1987) Exploration of mechanisms regulating larval survival in Lake Michigan bloater: a recruitment analysis based on characteristics of individual larvae. *Trans. Am. Fish. Soc.* 116: 703-718.

Rice JA, Miller TJ, Rose KA, Crowder LB, Marschall EA, Trebitz AS, DeAngelis DL (1993) Growth rate variation and larval survival: inferences from an individual-based size-dependent predation model. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50: 133–142.

Richards LJ, Schnute JT, Kronlund AR, Beamish RJ (1992) Statistical models for the analysis of ageing error. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49: 1801–1815.

Ricker WE (1975) Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *B. Fish. Res. Board Can.* 191: 1-382.

Rilling GC, Houde ED (1999) Regional and temporal variability in growth and mortality of bay anchovy, *Anchoa mitchilli*, larvae in Chakesperae Bay. *Fish. Bull.* 97(3): 555-569.

Riveiro I, Guisande C, Lloves M, Maneiro I, Cabanas JM (2000) Importance of parental effects on larval survival in *Sardina pilchardus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 205: 249–258.

Riveiro I, Guisande C, Iglesias P, Basilone G and others (2011) Identification of subpopulations in pelagic marine fish species using amino acid composition. *Hydrobiologia* 670: 189–199

Robert D, Castonguay M, Fortier L (2007) Early growth and recruitment in Atlantic mackerel *Scomber scombrus*: discriminating the effects of fast growth and selection for fast growth. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 337: 209–219.

Rodríguez J (1982) *Oceanografía del Mar Mediterráneo*. Ed. Pirámide. Madrid, España.

Rodríguez JM (1990) Contribución al conocimiento del ictioplancton del Mar de Alborán. *Bol. Inst. Esp. Oceanog.* 6: 1-20.

Rodríguez V, Blanco JM, Echevarría F, Rodríguez J, Jiménez-Gómez F, Bautista B (1994) Nutrientes, fitoplancton, bacterias y material particulado del mar de Alborán en Julio de 1992. *Publicaciones Especiales del Instituto Español de Oceanografía* 146: 53-78.

Rodriguez J, Blanco JM, Jiménez-Gómez F, Echevarría F, Gil J, Rodríguez V, Ruíz J, Bautista B, Guerrero F (1998) Patterns in the size structure of the phytoplankton community in the deep fluorescence maximum of the Alborán Sea (south-western Mediterranean). *Deep-Sea Research Part I* 45: 1577-1593.

Rosenberg AA, Haugen AS (1982) Individual growth and size-selective mortality of larval turbot (*Scophthalmus maximus*) reared in enclosures. *Mar. Biol.* 72: 73-77.

Rossi-Wongtschowski CLDB, Clemmesen C, Ueberschaer B, Dias JF (2003) Larval condition and growth of *Sardinella brasiliensis* (Steindachner 1879): preliminary results from laboratory studies. *Sci. Mar* 67(1): 13-23.

Rubio A, Arnau PA, Espino M, del Mar Flexas M, Jordá G, Salat J, Puigdefabregas J, Agustín S (2005) A field study of the behaviour of an anticyclonic eddy on the Catalan continental shelf (NW Mediterranean). *Prog. Oceano.* 66(2): 142-156.

Ruiz J, Echevarría F, Font J, Ruiz S, García E, Blanco JM, Jiménez-Gómez F, Prieto L, González-Alaminos A, García CM, Cipollini P, Snaith H, Bartual A, Reul A, Rodríguez V (2001) Surface distribution of chlorophyll, particles and gelbstoff in the Atlantic jet of the Alborán Sea: from submesoscale to subinertial scales of variability. *J. Marine Syst.* 29: 277-292.

Sabatés A., Salat J, Olivar MP (2001) Advection of continental water as an export mechanism for anchovy (*Engraulis encrasicolus*) larvae. *Sci. Mar.* 65:15–28.

Sabatés A, Olivar MP, Salat J, Palomera I, Alemany F (2007) Physical and biological processes controlling the distribution of fish larvae in the NW Mediterranean. *Prog. Oceanogr.* 74: 355–376.

Salat J (1996) Review of hydrographic environmental factors that may influence anchovy habitats in northwestern Mediterranean. *Sci. Mar.* 60(2): 21–32.

Salat J, Garcia M, Cruzado A, Palanques A, Arín L, Gomis D, Guillén J, de León A, Pauigdefabregas J, Sospedra J, Velásques ZR (2002) Seasonal



changes of the water mass structure and shelf slope exchanges at the Ebro shelf (NW Mediterranean). *Cont. Shelf. Res.* 22: 327-346.

Santojanni A, Arneri E, Bernardini V, Cingolani N, Di Marco M, Russo A (2006) Effects of environmental variables on recruitment of anchovy in the Adriatic Sea. *Clim. Res.* 31: 181–193.

Sarhan T, García Lafuente J, Vargas M, Vargas JM, Plaza F (2000) Upwelling mechanisms in the northwestern Alboran Sea. *J. Mar. Syst.* 23: 317-331.

Schismenou E, Giannoulaki M, Tsiaras K, Lefkaditou E, Triantafyllou G, Somarakis S (2014) Disentangling the effects of inherent otolith growth and model-simulated ecosystem parameters on the daily growth rate of young anchovies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 515: 227–237.

Schwartzlose RA, Alheit J, Bakun A, Baumgartner TR, Cloete R, Crawford RJM, Fletcher WJ, Green-Ruiz Y, Hagen E, Kawasaki T, Lluch-Belda D, Lluch-Cota SE, MacCall AD, Matsuura Y, Nevárez-Martínez MO, Parrish RH, Roy C, Serra R, Shust KV, Ward MN, Zuzunaga JZ (1999) Worldwide large-scale fluctuations of sardines and anchovy populations. *S. Afr. J. Mar. Sci.* 21:289–347.

Searcy SP, Sponaugle S (2001) Selective mortality during the larval-juvenile transition in two coral reef fishes. *Ecology* 82: 2452–2470.

Secor DH (1992) Application of otolith microchemistry analysis to investigate anadromy in Chesapeake Bay striped bass *Morone saxatilis*. *Fish. Bull.* 90: 798-806.

Secor DH, Dean JM, Campana S (1995) Fish otoliths: Faithful biological and environmental chronometers? En: Secor DH, Dean JH, Campana S (eds.) *Recent Developments in Fish Otolith Growth*. University of South Carolina Press. Columbia, USA.

Secor DH, Dean JM, Campana SE (1995) *Recent Developments in Fish Otolith Research*. University of South Carolina Press. Columbia, USA.

Shannon LJ, Cury P, Jarre A (2000) Modelling effects of fishing in the Southern Benguela ecosystem. *ICES Journal of Marine Science* 57: 720–722.

Sharp GD, Mclain D (1993) Fisheries, El Nino-southern oscillation and upper ocean temperature records: an eastern pacific example. *Ocean*. 6: 13-22.

Shepherd JG, Cushing DH (1980) A mechanism for density dependent survival of larval fish as the basis of a stock recruitment relationship. *J. Cons. Int. Explor. Mer* 39: 160–167.

Sirois P, Dodson JJ (2000) Critical periods and growth dependent survival of larvae of an estuarine fish, the rainbow smelt *Osmerus mordax*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 203: 233–245.

Southward AJ, Boalch GT, Mattock L (1988) Fluctuations in the herring and pilchard fisheries of Devon and Cornwall linked to change in climate since the 16<sup>th</sup> century. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 68: 423-445.

Stenevik EK, Fossum P, Johannessen A, Folkvord A (1996) Identification of Norwegian spring spawning herring (*Clupea harengus* L.) larvae from spawning grounds off western Norway applying otolith microstructure analysis. *Sarsia* 80: 285–292.

Stevenson DK, Campana SE (1992) Otolith microstructure examination and analysis. *Can. Spec. Publ. Fish Aquat. Sci.* 117.

Stuart A, Ord JK (1991) Kendall's Advanced Theory of Statistics. Classical Inference and Relationship, vol. 2. 5th ed. Charles Griffin and Company Limited. London, UK.

Takahashi M, Watanabe Y (2004) Growth rate-dependant recruitment of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* in the Kuroshio-Oyashio transitional waters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 266: 227–238.

Takahashi M, Checkley Jr. DM, Litz MNC, Richard D, Brodeur RD, Peterson WT (2012) Responses in growth rate of larval northern anchovy (*Engraulis mordax*) to anomalous upwelling in the northern California Current. *Fish. Oceanogr.* 21(6): 393–404.

Takasuka A, Aoki I, Mitani I (2003) Evidence of growth selective predation on larval japanese anchovy *Engraulis japonicus* in Sagami Bay. Mar. Ecol. Prog. Ser. 252 :223–238.

Takasuka A, Oozeki Y, Kimura R, Kubota H, Aoki I (2004) Growth-selective predation hypothesis revisited for larval anchovy in offshore waters: cannibalism by juveniles versus predation by skipjack tunas. Mar. Ecol. Prog. Ser. 278: 297–302.

Takasuka A, Aoki I (2006) Environmental determinants of growth rates for larval Japanese anchovy *Engraulis japonicus* in different waters. Fish. Oceanogr. 15(2): 139–149.

Tanaka Y, Satoh K, Iwahashi M, Yamada H (2006) Growth dependent recruitment of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the northwestern Pacific Ocean. Mar. Ecol. Prog. Ser. 319: 225–235.

Thorrold SR, Hare JA (2002) Otolith applications in reef fish ecology. En: Sale PF (ed) Advances in the Ecology of Fishes on Coral Reefs. Elsevier Science. New York, USA.

Tintoré J, Gomis D, Alonso S, Parrilla G (1991) Mesoscale dynamics and vertical motion in the Alboran Sea. J. Phys. Oceanogr. 21: 811-823.

Tudela S, Palomera I (1995) Diel feeding intensity and daily ration in the anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Northwest Mediterranean Sea during the spawning period. Mar. Ecol. Prog. Ser. 129: 55-61.

Tudela S, Palomera I (1997) Trophic ecology of the European anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Catalan Sea (Northwest Mediterranean). Mar. Ecol. Prog. Ser. 160: 121–134.

Tudela S, Palomera I, Quilez G (2002) Feeding of anchovy *Engraulis encrasicolus* larvae in the north-west Mediterranean. J. Mar. Biol. Ass. UK 82: 349–350.

Tugores MP, IglesiasM, Diaz N, Onate D, Miquel J, Giraldez A (2010) Latitudinal and interannual distribution of the European anchovy (*Engraulis*

*encrasicolus*) and sardine (*Sardina pilchardus*) in the western Mediterranean, and sampling uncertainty in abundance estimates. ICES J. Mar. Sci. 67: 1574–1586.

Vanderklift MA, Ponsard S (2003) Sources of variation in consumer-diet  $\delta^{15}\text{N}$  enrichment: a metaanalysis. Oecologia 136: 169–182.

Victor BC (1982) Daily growth increments and recruitment in two coral reef wrasses, *Thalassoma bifasciatum* and *Halichoeres bivittatus*. Mar. Biol. 71: 203–208.

Victor BC (1991) Settlement strategies and biogeography of reef fishes. En: Sale PF (ed) The ecology of fishes on coral reefs. Academic Press. San Diego, USA.

van der Zanden MJ, Casselman JM, Rasmussen JB (1999) Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. Nature 401: 464–467.

van der Zanden MJ, Shuter B, Lester NP, Rasmussen JB (2000) Within- and among-population variation in the trophic position of a pelagic predator, lake trout (*Salvelinus namaycush*). Can. J. Fish Aqu. Sci. 57: 725–731.

Vargas-Yáñez, M., T. Ramírez, D. Cortés, M. Sebastián y P. Plaza (2002). Warming trends in the continental shelf of Málaga Bay (Alborán Sea). Geophy. Res. Let. 29(22):39:1–4.

von Westernhagen H, Freitas C, Fürstenberg G, Willführ-Nast J (1998) C/N data as an indicator of condition in marine fish larvae. Arch. Fish. Mar. Res. 46: 165–179.

Voss R, Dickmann M, Schmidt JO (2009) Feeding ecology of sprat (*Sprattus sprattus* L.) and sardine (*Sardina pilchardus* W.) larvae in the German Bight, North Sea. Oceanologia 51: 117–138.

Ware DM (1975) Relation between egg size, growth, and natural mortality of larval fish. J. Fish. Res. Board Can. 32: 2503–2512.

Watanabe N, Tanaka K, Yamada J, Dean JM (1982) Scanning electron microscope observations of the organic matrix in the otolith of the teleost fish *Fundulus heteroclitus* (Linnaeus) and *Tilapia nilotica* (Linnaeus). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 58: 127–134.

West CJ, Larkin PA (1987) Evidence for size-selective mortality of juvenile sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in Babine Lake, British Columbia. Can. J. Fish Aquat. Sci. 44: 712–721.

Westerman M, Holt GJ (1994) RNA:DNA ratio during the critical period and early larval growth of the red drum *Sciaenops ocellatus*. Mar. Biol. 121: 1-9.

Whitehead PJP (1981) Clupeidae En: Fisher W, Bianchi G, Scott WB (eds.) FAO Species Identification Sheets for Fishery Purposes. Eastern Central Atlantic; Fishing areas 34, 47 (in part). FAO. Ottawa, Canadá.

Whitehead PJP (1985) FAO species catalogue. Clupeoid fishes of the world. An annotated and illustrated catalogue of the herrings, sardines, pilchards, sprats, shads, anchovies and wolf-herrings. Part 1 – Chirocentridae, Clupeidae and Pristigasteridae. FAO Fish. Synop. 7.

Whitehead PJP, Nelson GJ, Wongratana T (1988) Clupeoid Fishes of the World (Suborder Clupeoidei). FAO Fisheries Synopsis No. 125, Vol. 7. Part 2 – Engraulididae. FAO. Rome, Italy.

Whitehead PJP (1990) Clupeidae. En: Quéro JC, Hureau JC, Karrer C, post A, Sladanha L (eds.) Check-list of the Fishess of the Easlern Tropical Atlantic (Clófeta II). Unesco. París, France

Wilhelm MR, Painting SJ, Field JG, Kerstan M, Durholtz MD (2005) Impact of environmental factors on survival of larval and juvenile Cape anchovy *Engraulis encrasicolus* (G.) in the southern Benguela upwelling region, determined from hatchdate distributions: implications for recruitment. Mar. Fresh. Res. 56 (5): 461–572.

Wilson CA, Brothers E, Casselman JM, Smith CI, Wild A (1983) Glosary. En: Prince D, Pulos LM (eds.) Proceedings of the international workshop on age

determination of oceanic pelagic fishes: tunas, bullfishes and sharks. NOAA. Nat. Mar. Fish. Serv. Tech. Rep. 8: 207-208.

Wilson DT, Meekan MG (2002) Growth-related advantages for survival to the point of replenishment in the coral reef fish *Stegastes partitus* (Pomacentridae). Mar. Ecol. Prog. Ser. 231: 247–260.

Worthington DG, Doherty PJ, Fowler AJ (1995) Variation in the relationship between otolith weight and age: implications for the estimation of age of two tropical damselfish (*Pomacentrus moluccensis* and *P. wardi*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 52: 233–242.

Wright PJ, Fallon-Cousin P, Armstrong JD (2001) The relationship between otolith accretion and resting metabolic rate in juvenile Atlantic salmon during a change in temperature. J. Fish. Biol. 59: 657–666.

Wright PJ, Panfili J, Morales-Nin B, Geffen AJ (2002). Otoliths: Description and function. En: Manual of Schlerochronology in Fishes. IFREMER-IRD. Brest, France.

Wyatt T (1985) Distribution of European sardine. SARP seminar. Vigo, Spain.

Wyatt T, Larrañeta MG (1988) Long term changes in marine fish populations. Proceedings of a Symposium in Vigo. Imprento REAL. Bayona, Spain.

Yoshii K (1999) Stable isotope analysis of benthic organisms in Lake Baikal. Hydrobiologia 411: 145–159.

Young KV, Dower JF, Pepin P (2009) A hierarchical analysis of the spatial distribution of larval fish prey. J. Plankton Res. 31: 687–700.

Yúfera M, Parra G, Santiago R, Carrascosa M (1999) Growth, carbon, nitrogen and energy content of *Solea senegalensis* Kaup (Pisces, Soleidae) from egg fertilization to metamorphosis. Mar. Biol. 134: 43–49.

# CAPÍTULO 10

## Resumen

---





Los primeros estadios de las especies de pequeños pelágicos forman parte del ictioplancton, que representa la fracción zooplanctónica compuesta por los huevos y larvas de peces (Ahlstrom & Moser 1976). Las fases larvarias de estas especies se extienden desde la eclosión de larva del huevo hasta que alcanza el estado juvenil cuando la larva adquiere el aspecto de un pequeño adulto (Blaxter 1969).

Teniendo en cuenta todo su ciclo vital, durante sus fases larvarias las especies se ven sometidas a las máximas tasas de mortalidad (McGurk 1986) que provocan que un número muy reducido de individuos lleguen a completar su desarrollo larvario (Houde 1989). Estas primeras fases del desarrollo representan un cuello de botella (Anderson 1988, Legget & DeBlois 1994, Houde 2008) y determinan la abundancia y viabilidad de las poblaciones ya que condicionan el éxito del reclutamiento (Houde 1987), es decir, la variabilidad en el número de individuos que cada año pasa a formar parte de la fracción reproductora de la población (Myers 2002).

Los principales factores que provocan la mortalidad durante estas primeras fases del desarrollo son la inanición y la depredación (Bailey & Houde 1989, Legget & DeBlois 1994). Numerosos estudios (Allain et al. 2003, Takasuka et al. 2003, García et al. 2003, Takahashi & Watanabe 2004, Alemany et al. 2006, Takasuka & Aoki 2006, Palomera et al. 2007, García et al. 2007, La Mesa et al. 2009) han demostrado como las tasas de crecimiento determinan cambios en la incidencia de dichos factores sobre la supervivencia larvaria de las especies de pequeños pelágicos, de manera que, poblaciones con crecimientos más rápidos originarían individuos de mayor tamaño en menor tiempo (Anderson 1988, Miller et al. 1988) que presentarían mayor

capacidad para escapar de los depredadores (Miller et al. 1988, Bailey & Houde 1988, Chick and Van Den Avyle 2000) y alimentarse (Hunter 1972, Folkvord et al. 1997, Pitchford & Brindley 2001) que las de menor tamaño, aumentando así sus probabilidades de supervivencia (Folkvord & Hunter 1986).

El objetivo general de esta tesis es el estudio de la variabilidad en el crecimiento larvario de la anchoa (*Engraulis encrasicolus*) y la sardina (*Sardina pilchardus*), que representan las dos especies de pequeños pelágicos con mayor importancia tanto en abundancia como a nivel comercial de las costas mediterráneas españolas. Con este fin, se han llevado a cabo estudios inter-poblacionales entre las dos zonas de puesta con mayor importancia para ambas especies en el Mediterráneo Occidental (Mar Catalán y Mar de Alborán) para determinar diferencias entre sus patrones de crecimiento y los factores ambientales responsables las mismas .

La asignación de edad de larvas se ha llevado a cabo a través del análisis de la microestructura de sus otolitos (Campana & Neilson 1985, Stevenson & Campana 1992, Secor et al. 1995, Campana 1999) y conteo de los anillos depositados con periodicidad diaria originados por diferencias en el ciclo de deposición de la matriz proteica (Victor 1991) debidas a procesos circadianos de naturaleza endógena (Campana & Jones 1992).

Nuestros resultados obtenidos indicarían que las larvas de sardina que se desarrollan en el Mediterráneo Noroccidental y las larvas de anchoa capturadas en el Mar de Alborán presentarían unas mayores tasas de crecimiento y, en consecuencia, una mayor probabilidad de sobrevivir hasta

llegar a formar parte de la fracción reproductora y asegurar el éxito en el reclutamiento de estas poblaciones.

Entre las zonas de estudio existen importantes diferencias hidroclimáticas que caracterizan ambos ecosistemas (García & Palomera 1996, Bakun & Agostini 2001, Agostini & Bakun 2002) y hacen que sean consideradas áreas geográficas estadísticamente independientes. Las tasas de crecimiento se ven influidas por las características tanto abióticas como bióticas del ecosistema en el que se desarrollan las larvas (Pepin et al. 2015). Por tanto, definir los factores ambientales característicos de cada área resulta imprescindible para interpretar las diferencias observadas en los patrones de crecimiento de ambas especies.

Los factores ambientales con mayor trascendencia en el crecimiento larvario y, en consecuencia, en su supervivencia son la temperatura y la disponibilidad de alimento (Buckley 1984, Heath 1992, Rilling & Houde 1999, Jobling 2002).

Las diferencias de temperatura observadas entre las áreas de puesta son mínimas ( $<1^{\circ}\text{C}$ ) o inexistentes, por lo que no pueden ser responsables de las diferencias observadas en los patrones de crecimiento. En este tipo de situaciones, en que la temperatura de las áreas comparadas es similar, las diferencias en tasas de crecimiento vendrían determinadas por el éxito alimenticio de las larvas (García et al. 2003, Pepin & Dower 2007, Catalán et al. 2010).

La disponibilidad de alimento tiene un papel fundamental desde el momento en que la larva pasa a depender de la alimentación exógena (una

vez ha agotado sus reservas vitelinas y pasa a depender de su capacidad para detectar y capturar presas) (Hjort 1914) y su importancia se extiende a lo largo de todo su ciclo larvario (Cushing 1975, 1990).

Nuestros resultados apoyan las conclusiones de estudios previos (Owen 1989, Lough & Broughton, 2007, Young et al. 2009) ya que las larvas con tasas de crecimiento más altas en ambas especies se han desarrollado en ecosistemas con mayor producción primaria y una mayor disponibilidad de nutrientes en comparación con aquellas larvas que han sido capturadas en ambientes más oligotróficos y presentan menores tasas de crecimiento.

La disponibilidad de alimento viene determinada por factores como la batimetría y los procesos de fertilización propios de cada área (Arnau 2000, Rubio et al. 2005). Entre el Mar Catalán y el Mar de Alborán se observan importantes diferencias en los procesos de fertilización durante las épocas de puesta de ambas especies responsables de las diferencias en los niveles de producción primaria. Los principales factores de enriquecimiento en la zona septentrional y meridional vienen representados respectivamente por los aportes del río Ebro durante la época invernal (que ofrecen gran cantidad de nutrientes a nivel superficial) (Margalef 1968, Estrada et al. 1985, Estrada 1996, Salat 1996) y el máximo nivel de entrada de agua atlántica (intensifica los fenómenos de afloramiento) durante el verano (Cortés et al. 1985, Minas et al. 1991, Rodríguez et al. 1994, 1998, García-Górriz & Carr 2001, Ruiz et al. 2001).

La comprensión de la relación entre el crecimiento y la ecología trófica de las especies resulta fundamental para entender su desarrollo espacio-

temporal dentro de los ecosistemas (Costalago 2011). Para determinar los patrones tróficos se llevaron a cabo análisis de isótopos estables de N y C que permiten la estimación de los niveles tróficos y las fuentes de carbono de los consumidores en la cadena trófica (Post 2002, Costalago et al. 2012).

Para determinar la influencia del comportamiento trófico larvario en el potencial de crecimiento se llevaron dos tipos de aproximaciones: análisis inter- e intra-poblacionales.

En el caso de las larvas de sardina, las diferencias somáticas observadas entre dos grupos de larvas con distintas estrategias de crecimiento no pudieron ser explicadas desde un punto de vista trófico. Estos análisis comparan grupos de larvas capturados en un único arrastre por lo que podemos asumir que se han desarrollado en un entorno similar y, por tanto, dichas diferencias tampoco podrían ser atribuidas a diferencias en las condiciones ambientales. En consecuencia, las diferencias en las estrategias de crecimiento deben de tener una base genética y ser el reflejo de una estrategia adaptativa de la especie a las características del área de puesta y asegurar su supervivencia de las poblaciones (Crean & Marshall 2009).

Por el contrario, al comparar dos poblaciones de las larvas de anchoa, el comportamiento trófico parece estar condicionado por la disponibilidad de alimento y tener influencia en las tasas de crecimiento larvario. Los resultados intra-poblacionales demuestran como las ventajas en el crecimiento asociadas a un comportamiento trófico más selectivo se ven condicionadas por la disponibilidad de alimento del ecosistema.

Con respecto a la dieta de larvas, los resultados de enriquecimiento trófico obtenidos a través de la diferencia en los isótopos estables de las larvas con respecto de sus presas potenciales permite inferir, a menos durante estas fases de desarrollo, que la fracción zooplanctónica representa la principal fuente de alimento de ambas especies lo que concuerda con los resultados de otros estudios basados en el análisis de contenidos estomacales (Conway et al. 1994, Tudela 2002, Fernández & Gonzalez-Quirós 2006, Voss et al. 2009, Borme et al. 2009, Catalán et al. 2010, Costalago et al. 2010, Morote et al. 2010,).

Los estudios de asignación de edad representan una disciplina fundamental dentro de las ciencias pesqueras (Campana 2001) y la edad de más de un millón de individuos es estimada cada año (Campana & Thorrold 2001).

El método más fiable para la estimación de edad durante las fases larvarias reside en el estudio de la microestructura de los otolitos y el conteo de las estructuras diarias originadas por diferencias en los procesos de deposición (Campana & Neilson 1985, Secor et al. 1995, Campana, 1999).

Sin embargo, este tipo de estudios implica un delicado proceso de extracción y montaje y, para la obtención de resultados fiables, requiere la participación de lectores expertos (Megalofonou 2006) lo que provoca que los estudios de crecimiento larvario resulten muy costosos (Bedford 1983, Cardinale & Arrhenius 2004, Francis & Campana 2004).

Una de las principales fuentes de error en este tipo de estudios es el factor subjetivo de cada lector junto con las diferencias de criterio de lectura entre distintos lectores (Boehlert, 1985, Campana & Moksness 1991).

En esta tesis se propone un método de estimación de edad basado en funciones discriminantes que reduciría de manera notable tanto la influencia del factor subjetivo como el cociente coste/beneficio en los estudios de crecimiento larvario.

El modelo propuesto se basa exclusivamente en variables biométricas del otolito y consigue altos porcentajes de asignación correcta dentro de unos límites de error aceptables y con valores muy bajos de los indicadores de dispersión (APE y CV).

Además, las estimas obtenidas son, al menos, tan buenas como las asignadas por la lectura directa de los otolitos, es aplicable a otras poblaciones bajo una serie de condiciones y reduce el esfuerzo en este tipo de estudios ya que es capaz de, a partir de un reducido número de larvas, estimar la edad de un grupo significativamente mayor lo que reduce de manera notable el número de lecturas a realizar.





The early life stages of small pelagic species form part of the ichthyoplankton, representing within zooplankton the fraction corresponding to eggs and larval stages of fish (Ahlstrom & Moser 1976). The early life stages of these species span from hatch to the different developmental stages of larvae till reaching the juvenile stage when their morphology is like a small-sized adult (Blaxter 1969).

The initial stages of larval development are prone to suffer maximum mortality rates (McGurk 1986) that provoke that only a small number of larvae complete their ontogenic development (Houde 1989). As larvae develop, these reach an important bottleneck determining their abundance and viability (Anderson 1988, Legget & DeBlois 1994, Houde 2008), and thereby, their future recruitment into the fishery (Houde 1987) which is conditioned by the variability of individuals that each year begin to form part of reproductive individuals of a population (Myers 2002).

The main factors affecting mortality during these early larval stages are caused by starvation and predation (Bailey & Houde 1989, Legget & DeBlois 1994). A number of studies evidence the influence of early life growth rates determine larval survival of small pelagic species (Allain et al. 2003, Takasuka et al. 2003, García et al. 2003, Takahashi & Watanabe 2004, Alemany et al. 2006, Takasuka & Aoki 2006, Palomera et al. 2007, García et al. 2007, La Mesa et al. 2009), in such a way that populations showing increased growth rates lead to larger-sized individuals in less time (Anderson 1988, Miller et al. 1988) conferring them a greater escapement potential from predators (Miller et al. 1988, Bailey & Houde 1988, Chick & Van Den Avyle 2000) and feed better

than the smaller larvae (Hunter 1972, Folkvord et al. 1997, Pitchford & Brindley 2001), thus increasing their chances of surviving (Folkvord & Hunter 1986).

The general objective of this thesis is to analyze the variability of larval growth of the Mediterranean anchovy (*Engraulis encrasicolus*) and sardine (*Sardina pilchardus*). These species compose the main bulk of the small pelagic stocks in the Mediterranean whose commercial value sustains a major fraction of the Spanish Mediterranean coastal fisheries. To the fulfillment of this objective, inter-poblational studies were carried out between the two major small pelagic spawning grounds, located off the NW and SW Mediterranean (Catalán Sea and Alboran Sea) to differentiate daily growth patterns with their surrounding environmental conditions.

Age determination of larvae were carried by otolith microstructure analysis (Campana & Neilson 1985, Stevenson & Campana 1992, Secor et al. 1995, Campana 1999) by counting daily rings that are accreted in protein matrix with a daily periodicity (Victor 1991) due to circadian processes of endogenous nature (Campana & Jones 1992).

Our results indicate that sardine larvae from the NW Mediterranean and anchovy from the Alboran Sea show highest comparative growth, and consequently, greater chances of survival till reaching maturity for assuring future recruitment success of the population.

The two study areas show important differences from hydro-climatic viewpoint (García & Palomera 1996, Bakun & Agostini 2001, Agostini & Bakun 2002) which justify, among other reasons, that these populations are considered statistically distinct geographic areas for assessment purposes.

Growth rates are influenced by abiotic and biotic factors proper to each ecosystem in which larvae develop (Pepin et al. 2015). Thus, to be able to define specific environmental characteristics is imperative to interpret the observed differences in the growth patterns of both species.

The major environmental factors that influence larval growth, and thereby, their survival are temperature and food availability (Buckley 1984, Heath 1992, Rilling & Houde 1999, Jobling 2002).

The observed differences in temperature between the compared spawning grounds is minimal ( $<1^{\circ}\text{C}$ ) or negligible, and therefore, this parameter cannot be held responsible for differences in larval growth patterns. In these cases where temperature do not seem to influence growth rates, it is feeding rate and trophic dynamics which definitely drive larval growth larvae (García et al. 2003, Pepin & Dower 2007, Catalán et al. 2010).

Feeding availability has fundamental role from the moment in which larvae depend on exogenous sources of food (once vitellum lipid reserves are spent and larvae develop preying abilities) (Hjort 1914) and its importance spans over the whole larval ontogeny (Cushing 1975, 1990).

Our results support the conclusions of previous studies (Owen 1989, Lough & Broughton, 2007, Young et al. 2009) because both species have developed in an ecosystem whose primary production was greater and greater nutrient input availability in comparison with larvae from more oligotrophic areas where decreased growth occurs.

Feeding availability is determined by factors such as, bathymetry and fertilization processes specific of each area (Arnau 2000, Rubio et al. 2005). The Catalán Sea and the Alboran Sea show important differences during the spawning season of each species in the factors that influence fertilization of water masses, e.g., primary production. The principal causes of enrichment of spawning grounds in the northern and southern Mediterranean, respectively, are the Ebro river discharge during winter supplying nutrients in the surface layers of the coast) (Margalef 1968, Estrada et al. 1985, Estrada 1996, Salat 1996) and the maximum Atlantic water inflow that intensify upwelling during summer (Cortés et al. 1985, Minas et al. 1991, Rodriguez et al. 1994, 1998, García-Górriz & Carr 2001, Ruiz et al. 2001).

The understanding of the relationship of larval growth and trophic ecology of species is essential to understand the spatio-temporal development within an ecosystem (Costalago 2011). To determine the specific trophic pathways at early life stages, it was necessary to analyze the stable isotopes of N and C which allow the estimation of trophic levels and the sources of carbon by consumers in the trophic food web (Post 2002, Costalago et al. 2012).

To determine the influence of trophic behaviour in larvae and its growth potential, two kinds of approaches were used, that is, a comparative inter-population analysis and an intra-population one.

In the case of sardine larvae, the somatic differences observed between the two groups of larvae with differentiated growth strategies could not be explained solely by trophic causes. In addition, this analysis compared two groups of larvae that were collected in one plankton haul, and thus reasonable

to assume that larvae have developed in the same environmental conditions have other sources of growth variability than environmental factors. Consequently, differences in growth strategies also do have a genetic component that determines its adaptation to the environmental characteristics, (Crean & Marshall 2009).

Contrarily, the comparison of the two larval anchovy populations show that these larvae are highly influenced by their early life trophodynamics determined by the availability of feeding resources determining growth variability. The intra-population analysis demonstrates that there are certain advantages in the having a more selective feeding behavior conditioned by the availability of feeding resources.

In respect of the larval diet, the results of trophic enrichment through stable isotope analysis show that the zooplankton size fraction is the main source of food, which is in agreement with published data from stomach content analysis (Conway et al. 1994, Tudela 2002, Fernández & Gonzalez-Quirós 2006, Voss et al. 2009, Borme et al. 2009, Catalán et al. 2010, Costalago et al. 2010, Morote et al. 2010).

Age determination studies are fundamental for fishery science (Campana 2001), where more than a million individuals are aged every year (Campana & Thorrold 2001).

The most reliable methods for estimating ages in larval stages resides in examining the microstructure of otoliths and the counting of individual daily increments deposited (Campana & Neilson 1985; Secor et al. 1995, Campana, 1999).

However, these kind of studies imply a delicate extraction and mounting process to have reliable age data with the participation of expert age readers (Megalofonou 2006) causing time and financial expenses that increase costs of age reading (Bedford 1983, Cardinale & Arrhenius 2004, Francis & Campana 2004).

One of the main sources of error in this type of studies is the subjective factor specific to each reader in conjunction with the differences of age reading criteria from other age readers (Boehlert, 1985, Campana & Moksness 1991).

This thesis proposes a novel approach to the determination of age based on discriminant functions that would reduce substantially the influence of the subjective factor in age reading ameliorating the cost/benefit quotient in larval growth studies.

The model proposed is exclusively based on biometric variables of the otoliths by which a high percentage of correct age determination within accepted error estimates and with low variation coefficients is achieved (APE y CV).

Furthermore, the estimates are at least as good as a direct reading of age. Under certain conditions, it is applicable to other species reducing the effort in this type of studies because age is estimated from a small number of larvae rather than the whole age reading of a larval population.

